

## 액와림프절 음성 유방암 환자에서 미세전이의 의의

인하대학교 의과대학 외과학교실

김장용 · 정주환 · 김세중 · 최선근 · 우제홍 · 신석환

= Abstract =

### The Significance of Micrometastasis in Axillary Lymph Node Negative Breast Cancer

Jang Yong Kim, M.D., Joo Whan Jeong, M.D., Sei Joong Kim, M.D.,  
Sun Keun Choi, M.D., Ze Hong Woo, M.D. and Seok Hwan Shin, M.D.

*Department of Surgery, Inha University College of Medicine*

**Purpose:** Lymph node metastasis is one of the most important prognostic factors in breast cancer. Survival of patients with axillary node positive breast cancer is worse than that of patients with axillary lymph node negative breast cancer. Recently, some authors suggest that axillary dissection may be avoidable if sentinel nodes of the breast cancer do not harbour metastasis. However, 15-20 % of patients with lymph node negative breast cancer recurs within 10 years. Micrometastasis, which was missed or not detected in routine histologic examination, is thought to be one of the reasons for recurrence of axillary node negative breast cancer patients. **Methods:** we investigated the frequency of micrometastasis and any clinical significance of micrometastasis in the breast cancer by immunohistochemical staining with anti-cytokeratin antibody from July, 1996 to November, 1999. 70 patients who underwent curative resection for axillary node negative breast cancer were studied retrospectively. We used paraffin blocks of lymph nodes which did not show metastasis by conventional pathological examination. After preparation of tissue blocks with a serial sectioning technique, specimens were stained by an immunohistochemical method using anti-cytokeratin antibody. Hematoxylin-eosin stainings were also repeated. We define metastasis less than 2mm as a micrometastasis. **Results:** The results showed that micrometastases were found in 8 of 70 cases(11.4%). There was a significant relationship between the micrometastasis and tumor size. With median follow-up of 20 months, we found 3 recurrences in 70 patients. : 2 recurrences(3.2%) in the 62 axillary node negative breast cancer patients. and 1 recurrence(12.5%) in 8 micrometastasis patients. **Conclusions:** The results showed that micrometastasis of lymph node in breast cancer might increase the risk for development of breast cancer recurrence. But, there was no significant relationship between the micrometastasis and recurrence of breast cancer because of small numbers of recurrences and relatively short follow-up period. Long term follow-up will be needed for further evaluation. (Journal of Korean Breast Cancer Society 2000;1:000~000)

**Key Words:** Breast cancer, Micrometastasis

## 서 론

유방암 환자에서 액와 림프절 전이 여부는 환자의 예후를 예측하는 데 있어 매우 중요한 인자이고, 또한 수술 후 보조요법의 시행을 결정하는 데 필수적이다<sup>1)</sup>. 수술 후 통상적인 조직병리검사에서 액와 림프절 전이가 없어 예후가 좋을 것으로 예측된 유방암 환자 군에서 10년 추적 관찰결과 15-20%에서 재발을 보였으며<sup>2)</sup> 이러한 림프절전이와 예후간의 불일치에 대한 연구가 진행되고 있다. 그 원인으로 는 진단 당시 림프절의 전이 없이 전신적으로 퍼져 있을 가능성, level III 액와 림프절 또는 내 액와 림프절 전이가 되어있으나 수술시 제거되지 않아 조직병리검사가 이루어지지 않았을 가능성과 불충분한 조직병리검사에 의해 액와림프절의 전이가 발견되지 않았을 가능성 등이 제기되어 왔다<sup>3)</sup>. 그 중에서도 1948년 Saphir와 Amromin<sup>4)</sup>이 수술 후 시행하는 통상적인 액와림프절 조직병리검사가 미세전이를 진단하는데 부정확하다고 처음으로 보고한 이후, 이를 보완하기 위해 여러 방법이 시도되었는데, 이 중 대표적인 것이 연속절편(serial sectioning) 또는 면역조직화학적 검사(immunohistochemical stain), 역전사 연쇄중합효소반응(reverse transcriptase polymerase chain reaction)등이다. Keratin은 세포골격을 형성하는 중간형 사상체(intermediate filament)의 일종으로 상피세포와 상피세포기원의 종양에서 발견된다. 정상 림프절에는 존재하지 않는 Keratin 단백질의 확인은 유방암 환자에서 통상적 조직병리검사에서 발견하지 못한 미세전이를 확인하는데 유용한 방법으로 잘 알려져 있다. 림프절 전이가 없는 유방암 환자 중 재발의 가능성이 있는 고위험군을 선별하기 위한 연구의 한 방법으로 림프절의 미세전이에 관한 연구가 많이 있었지만 국내에는 아직 미진한 분야로 최근 많이 연구되고 있다. 이에 저자들은 수술 당시 통상적인 조직병리검사에서 액와 림프절 전이가 없었던 유방암 환자에서 cytokeratin 항체를 이용한 면역조직화학적 검사를 통하여 미세전이의 빈도 및 미세전이의 예후적 가치를 평가하기 위해 본 연구를 시행하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상 환자

1996년 7월부터 1999년 11월까지 원발성 유방암으로 인하대학교 외과학교실에서 수술받고 통상적인 조직병리검사상 액와 림프절 전이가 없었던 79예 중, 림프절 파라핀 블록의 상태가 양호한 70예를 대상으로 연구를 시행하였다. 기존의 슬라이드를 재검토한 후, 림프절 파라핀 블록을 40 $\mu$ m 간격으로 두장의 슬라이드를 제작하여, 한 슬라이드는 H&E (Hematoxylin -Eosin) 염색을 하고 다른 슬라이드는 cytokeratin 항체를 사용하여 면역조직화학적 검사를 시행하였다. 미세전이의 판정은 H&E 염색한 슬라이드와 anti-cytokeratin antibody로 면역조직화학적 염색을 시행한 슬라이드를 광학현미경으로 관찰( $\times 40, \times 200$ )하여 판정하였으며, 면역조직화학적 염색을 시행한 슬라이드 중 갈색으로 착색된 세포나 군집을 양성으로 판정하였다. 대상 환자를 액와림프절 미세전이군(micrometastasis group) 및 액와 림프절 비전이 군(node negative group)으로 나누어 각 군에서 원발 종양의 크기, 병리조직학적 분류, 조직학적 등급, 핵 등급, 에스트로겐 수용체 유무, 프로게스테론 수용체 유무, DNA ploidy, Bcl-2, C-erb-B2, Cyclin D1 등의 병리인자들을 비교 분석하였고, 평균 20.6개월간을 추적관찰하여 각 군에서 재발 및 예후에 차이가 있는 지를 알아보았다. 통계 처리는 SPSS(ver.8.0)를 이용하여 미세전이와 각 인자간 분율의 유의한 차이를 알아보기 위하여 Chi-square test로 검정하였고, p 값이 0.05 이하인 경우에 통계적으로 유의한 차이가 있다고 판단하였다.

### 2. 면역조직화학적 검사

종양 조직의 고정액으로는 10% 중성 완충 포르말린(neutral buffered formalin)을 사용하였으며, 일정한 조직 처리과정(tissue processing)을 거친 후 파라핀으로 포매하였다. 파라핀에 포매한 조직을 4 $\mu$ m 두께로 절편을 만들어 xylene으로 5분동안 탈파라핀한 후 100%, 95%, 75% 에탄올로 처리하고 증류수로 함수시켰다. 멸균 소독기를 이용하여 121 $^{\circ}$ C의 끓

는 TBS(Tris Buffer Solution, pH 6.0)에 15분간 처리한 후, 3% 과산화수소로 내인성 과산화 효소의 작용을 억제시켰다. TBS(Tris Buffer Solution)로 5분씩 3회 세척한 후 정상 염소 혈청으로 비특이적 반응을 억제시켰다. DAKO사의 clone MNF116 단클론성 항체를 가한 후 상온에서 1시간동안 반응시켰다. 다시 TBS로 세척하고 streptavidin과 peroxidase가 결합된 용액에 15분간 반응시킨 후 diaminobenzidine (DAB)으로 발색시킨 다음 Meyer's hematoxylin으로 대조 염색하고 봉입하였다.

## 결 과

### 1. 임상적 소견

대상 환자는 모두 여성이었으며 평균 연령은  $47.1 \pm 9.9$ 세(25-72세)였고(Table 1), 원발 종양의 크기는 T1이 31예, T2가 35예, T3가 4예로 T2 병변이 50.0%로 가장 많았다. 조직학적 분류로는 침윤성 관암종 60예(85.7%), 미세침윤을 동반한 관상피내암종 8예(11.4%), 수질성 암종 1예(1.4%), 점액성 암종 1예(1.4%)였다. 미세침윤을 동반한 관상피내암종 8예를 제외한 유방암 62예중에서 조직학적 분화도는 고분화암종 9예, 중분화암종 20예, 저분화암종 33예였다. 또한, 미세침윤을 동반한 관상피내암종 8예를 제외한 유방암 62예중에서 핵분화도는 I 등급 29예, II 등급 28예, III 등급 5예였다.

### 2. 미세전이의 특징

70예의 유방암 환자에서 적출된 액와 림프절은 1283개로 환자당 평균  $18.3 \pm 7.2$ 개였다. 그 중 8예(11.4%)에서 전이가 발견되었고, 전이된 림프절수는 9개(0.7%)였다. 림프절의 전이는 암세포 침윤이 2mm이하인 경우를 미세전이(micrometastasis)로 판정하였고 미세전이는 다시 0.2mm를 기준으로 분류하였다. 2mm 이하의 미세전이 중 0.2mm 미만의 미세전이는 6예로 모두 림프절 피막하에서 관찰되었고, 0.2mm 이상 2mm 이하 크기의 미세전이는 2예로 림프절 피막하에서 1예, 림프절 실질내에 1예가 관찰되었다.

### 3. 미세전이와 병리인자와의 비교

연구 대상 70예를 미세전이 유무와 병리인자들과 비교하였다. TNM분류에 의한 T1 31예 중 미세전이는 없었고, T2 35예 중 미세전이 7예(20.0%), T3 4예 중 미세전이 1예(25.0%)가 관찰되어 종양의 크기가 2cm 이상인 경우가 그 이하인 경우에 비해 유의한 차이가 있었다( $p=0.026$ )(Table 2). 림프관 침윤여부가 보고된 70예에서 침윤이 있는 16예 중 3예(18.8%), 침윤이 없는 54예 중 5예(9.3%)에서 미세전이가 발견되어 림프관침윤이 있을수록 미세전이의 빈도가 증가하였으나 통계적인 유의성은 없었다( $p=0.295$ ). 조직학적 분화도, 핵 분화도, 에스트로겐 수용체, 프로게스트로겐 수용체, DNA ploidy, Bcl-2, C-erb-B2, Cyclin D1발현 등의 인자들과 미세전이와는 유의한 상관관계가 없었다(Table 3).

### 4. 미세전이와 재발률

환자들의 평균 추적 관찰기간은  $20.6 \pm 10.6$ 개월이었고 70예 중 총 3예(4.3%)에서 재발이 있었다. 림프절 전이 음성군 62예에서는 2예(3.2%)에서 재발하였는데, 그 중 1예는 침윤성 관암종으로 변형 근치적 유방절제술 19개월 후에 다발성 골전이가 발견되었고, 다른 1예는 침윤성 관암종으로 유방보존술과 방사선 치료 14개월 후 병변부위의 흉벽 피부결절로 국소재발하였다. 미세전이군 8예 중 1예(12.5%)가 재발하였는데 침윤성 관암종으로 변형 근치적 유방절제술 22개월 후 병변부위의 흉벽 피

Table 1. Age Distribution

| Age(years) | No | %    |
|------------|----|------|
| 20-30      | 2  | 2.9  |
| 30-40      | 15 | 21.4 |
| 40-50      | 26 | 37.1 |
| 50-60      | 20 | 28.6 |
| 60-70      | 4  | 5.7  |
| 70-71      | 3  | 4.3  |
| Total      | 70 | 100  |

mean age :  $47.1 \pm 9.9$ .

**Table 2.** Correlation between the Micrometastasis and Pathologic Factors (I)

| Pathologic factor       | No. of Case | Positive rate of micrometastasis | p-value |
|-------------------------|-------------|----------------------------------|---------|
| Tumor size              | 70          |                                  |         |
| T $\leq$ 2.0            | 31          | 0% (0/31)                        | 0.026   |
| 2.0<T $\leq$ 5.0        | 35          | 20.0% (7/35)                     |         |
| 5.0<T                   | 4           | 25.0% (1/4)                      |         |
| Histologic Grade        | 70          |                                  |         |
| I                       | 9           | 11.1% (1/9)                      | 0.509   |
| II                      | 20          | 20.0% (4/20)                     |         |
| III                     | 33          | 9.1% (3/33)                      |         |
| Nuclear Grade           | 70          |                                  |         |
| III                     | 5           | 0% (0/5)                         | 0.510   |
| II                      | 28          | 10.7% (3/28)                     |         |
| I                       | 29          | 17.2% (5/29)                     |         |
| Lymphovascular Invasion | 70          |                                  |         |
| Positive                | 16          | 18.8% (3/16)                     | 0.295   |
| Negative                | 54          | 9.3% (5/54)                      |         |

The 8 cases of DCIS with invasion was excluded in histologic and nuclear grade.

**Table 3.** Correlation between the Micrometastasis and Pathologic Factors (II)

| Pathologic factor     | No. of case | Positive rate of micrometastasis | p- value |
|-----------------------|-------------|----------------------------------|----------|
| Estrogen receptor     | 46          |                                  |          |
| Positive              | 14          | 7.1% (1/14)                      | 0.591    |
| Negative              | 32          | 12.5% (4/32)                     |          |
| Progesterone receptor | 46          |                                  |          |
| Positive              | 17          | 11.8% (2/17)                     | 0.881    |
| Negative              | 29          | 10.3% (3/29)                     |          |
| DNA ploidy            | 46          |                                  |          |
| diploid               | 25          | 12.0% (3/25)                     | 0.788    |
| aneuploid             | 21          | 9.5% (2/21)                      |          |
| Bcl-2                 | 46          |                                  |          |
| Positive              | 28          | 10.7% (3/28)                     | 0.966    |
| Negative              | 18          | 11.1% (2/18)                     |          |
| C-erb-B2              | 46          |                                  |          |
| Positive              | 31          | 9.7% (3/31)                      | 0.709    |
| Negative              | 15          | 13.3% (2/15)                     |          |
| Cyclin D1             | 46          |                                  |          |
| Positive              | 23          | 13.0% (3/23)                     | 0.636    |
| Negative              | 23          | 8.7% (2/23)                      |          |

The number of patients which have studied Estrogen receptor, Progesterone receptor, DNA ploidy, Bcl-2, C-erb-B2 and Cyclin D1 concomitantly were 46 patients out of total 70 patient

Table 4. Correlation between the Nodal Status and Recurrence

| Nodal status                | No. of recur/ No. of total patients |
|-----------------------------|-------------------------------------|
| Negative of node metastasis | 2/62 (3.2%)                         |
| Micrometastasis             | 1/8 (12.5%)                         |

p=0.223.

부결절로 재발하였고 30개월 후 반대편 유방의 림프절로 전이되었다. 각 군간의 재발율은 통계적으로 의미있는 차이는 없었다(p value=0.223)(Table 4).

## 고 찰

유방암은 여성의 암 발생률 중 미국 1위, 국내 3위로 매우 빈도가 높은 종양이다<sup>5)</sup>. 최근 유방 촬영술의 발달과 대중매체에 의해 유방암에 대한 인식이 매우 높아져 림프절 전이가 없는 조기 유방암의 진단이 높아지고 있다. 그러나 수술 후 통상적인 조직병리검사에서 액와림프절 전이가 없어 예후가 좋을 것으로 예측된 유방암 환자들 중 수술후 10년 이상 추적 관찰결과 15-20%의 환자가 재발하는 것으로 알려지고 있다<sup>2)</sup>. 따라서, 림프절 전이가 없는 유방암 환자에서 수술 후 보조요법의 필요성에 대한 관심이 증가되고 있는 실정이다. 몇몇의 연구에서는 림프절 전이 유무와 상관없이 전신요법을 사용하여 치료 성적의 향상을 가져왔다고 보고하였다. NSABP B-13, B-14(National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project)의 초기 결과 보고<sup>6,7)</sup>에서 보조적 항호르몬 치료와 항암치료가 림프절 전이가 없는 유방암의 예후에 의미있는 영향을 줄 수 있다고 보고하였다. NSABP B-13의 8년간 추적 관찰한 Fisher 등의 보고<sup>8)</sup>에서는 림프절 전이가 없고 에스트로겐 수용체 음성인 유방암 환자 중 항암치료군의 무병생존율이 대조군에 비하여 우월하였으며, 49세 이하의 환자군과 50세 이상의 환자군에서 같은 결과를 보였다. 이런 결과에 영향을 받아 일부에서는 림프절의 전이에 상관없이 전신요법을 시행하는 것을 선호하기도 하지만, 이는 과도한 치료를 함으로써 환자에게 보조적인 치료에 의한 결과로 부작용과 과도한 의료비용을 초래할 수 있다. 따라서, 림

프절 전이가 없는 유방암 환자 중 재발의 가능성이 있는 고위험군을 선별하여 적극적인 치료를 하려는 시도가 계속되고 있다. 유방암 수술시 통상적으로 제거되는 액와 림프절은 유방암 전이시 중앙세포가 가는 첫 림프절로 액와 림프절 전이 유무는 유방암의 병기 결정, 예후, 그리고 수술 후 보조요법을 결정하는 데 필수적이다. 유방암 환자의 액와림프절 분석 방법은 림프절문(hilum)을 중심으로 한 두 개의 절편에 H&E(Hematoxylin-Eosin)를 염색하여 전이유무를 평가하는 것이 통상적인 방법으로 시행되고 있다. 이 방법에 대해 1948년 Saphir와 Amromin<sup>4)</sup>은 한 림프절 당 332개의 연속 절편을 검사하여, 30예 중 10예(33%)에서 추가의 전이를 발견함으로써 통상적인 방법으로는 미세전이를 발견하는데 부족하다고 주장하였다. 이 후 재발의 가능성이 있는 고위험군을 발견하기 위하여 액와림프절의 전이를 정확히 평가하기 위한 여러 방법이 시도되어 왔다.

액와림프절 분석에서 전이의 발견은 절제된 범위, 절제된 조직에서 림프절의 선별, 림프절의 절단면 및 검색한 절편의 수, 염색 방법, 그리고 병리의사의 판별력 등의 요인에 따라 달라질 수 있다<sup>9)</sup>. 미세전이의 빈도는 림프절의 절단면 및 검색한 절편수에 따라 빈도의 차이가 있을 수 있는데, 연속절편 및 H&E 염색법에서 1.5-2.0mm의 두께로 육안적 연속절편을 하였을 때 미세전이의 빈도는 9-17%<sup>10,11)</sup>, 현미경적 연속절편을 하였을 때 17-33%<sup>4,10,12,13,14)</sup>, 그리고 림프절 당 6단면의 검색시 9-14%의 미세전이를 보고하고 있으며<sup>11,15)</sup>, 면역조직화학적 검사에서 한 단면을 검색시 미세전이의 빈도는 9-23%<sup>16,17,18)</sup>, 4단면을 검색시 25%<sup>20)</sup>, 5단면 검색시 31%<sup>19)</sup>의 미세전이를 보고하여 림프절 당 검색한 단면적에 따라 미세전이의 발견 빈도가 증가됨을 보여준

다. 또한 염색방법에 따라 H&E와 면역조직화학적 검사를 비교해 보면 Trojani 등<sup>16)</sup>, Byrne 등<sup>17)</sup>은 통상적인 조직병리검사에서 암세포의 전이를 발견하지 못한 본래의 슬라이드에 면역조직화학적 검사를 시행하여 각각 14%, 10%의 추가 전이를 발견하였으며 Nasser 등<sup>19)</sup>은 H&E 염색에서 17%, 면역조직화학적 검사에서 31%의 미세전이를 발견하였고, McGuckin 등<sup>20)</sup>은 H&E에서 8%, 면역조직화학적 검사에서 25%의 미세전이를 발견하였다. Bussolati 등<sup>21)</sup>은 EMA, HMFG2, keratin에 대한 단일클론 항체를 사용하여 59예에서 12예(20%)의 전이를 발견하였고, H&E 염색을 사용해서는 50예 중 5예(10%)의 전이를 발견하여 면역조직화학적 검사가 H&E염색에 비해 우수함을 보여주었다. 본 연구에서는 통상적인 조직병리검사에서 림프절에 전이가 없다고 보고한 70예를 대상으로 하고 미세전이의 기준을 2mm이하로 하여 8예(11.4%)에서 미세전이가 관찰되었다. 그러나 이전의 조직병리검사에서 림프절의 전이 유무를 보고할 때 미세전이에 대한 언급이 없어서 기존의 액와림프절의 슬라이드의 전이된 병변을 재검사하였는데 86예 중 10예에서 2mm 이하의 미세전이가 추가로 관찰되었다. 이는 면역조직화학적 검사에서 발견된 미세전이와 향후 비교관찰이 필요할 것으로 사료된다. 실제로 림프절 전이가 없다고 보고된 유방암만을 대상으로 한 기존의 연구에서도 미세전이의 기준을 정하고 림프절 전이가 있는 군까지 재검사한다면 보고된 결과보다도 더 높은 수치가 나올 것으로 기대된다.

전이된 림프절은 전이한 종양 크기에 따라 0.2-2.0mm를 기준으로 미세전이와 거시전으로 분류한다<sup>20,22)</sup>. Black 등<sup>23)</sup>은 림프절 단면에서 25%이하의 전이를 미세전이라고 정의하였는데, 이 기준은 림프절의 크기가 다양하고 림프절이 전이 이외의 원인으로도 커질 수 있기 때문에 매우 모호하다. 최근의 연구에서는 미세전이와 거시전이를 임의적으로 구분하지 않는 경향을 보이고 있다. 크기에 상관없이 림프절에 전이가 있다는 것 자체가 종양의 생물학적 특성이기 때문이다. 면역조직화학적 검사에서 보이는 림프절 피막하의 한 개의 종양세포도 기저막과 간질과 같은 해부학적인 방어막을 관통하여 분

열하고 자라나서 다른 장소로 전이될 수 있는 반면 임파구와 면역복합체 등과 같은 적대적인 환경에서는 살아남지 못할 수도 있다. 그러나 림프절 실질내에서 발견되는 종양세포는 크기에 상관없이 착상하여 생존하고 성장한다고 생각된다.

미세전이의 특징을 보면 Fisher 등<sup>13)</sup>은 전이가 발견된 19예 중 10예에서 유리 종양세포가 림프절의 주변부와 피막하 공간에서 관찰하였고, 9예는 림프절의 실질내로 전이된 것을 관찰하였다. 전이된 종양의 크기는 0.2-1.3mm였고 평균 0.35mm였다. McGuckin 등<sup>20)</sup>은 전이가 발견된 53예 중에서 28예(53%)는 종양세포가 림프절의 피막 또는 피막하에 위치해 있었고, 13예(25%)는 림프절 실질내에, 12예(23%)는 양측 모두에 위치해 있었고 미세전이의 67%에서 종양 크기가 0.5mm 이하이었다. Bussolati 등<sup>21)</sup>은 발견된 미세전이세포가 주로 림프절동 또는 림프절 실질에 산재해 있었는데 특히 세포가 작고 조직구와 비슷해 발견하기 어려운 침윤성 소엽암종의 발견에 유용하다고 하였다. 본 연구에서 면역조직화학적 검사로 발견한 8예의 미세전이 중 0.2mm 이하의 전이는 6예, 0.2-2mm 사이의 전이는 2예였다. 또한 8예의 미세전이에서 7예는 림프절 피막하에서 관찰되었고, 1예는 림프절 실질에서 관찰되었는데, 림프절 실질에서 관찰된 미세전이는 1mm 크기의 비교적 큰 미세전이였다. 면역조직화학적 검사에서 발견되는 미세전이는 주로 0.2mm 이하의 전이로 이는 통상의 H&E의 검사에서 쉽게 발견하기 어렵기 때문이다. 현재에도 통일된 미세전이의 기준이 없어서 이에 대한 연구결과의 해석을 어렵게하므로 연구자들 사이의 공통된 견해를 바탕으로 미세전이의 기준에 대한 정립이 필요하다.

또한, 미세전이와 관련된 예후인자로 McGuckin 등<sup>20)</sup> 1개 이상의 미세전이, 미세전이의 크기, 조직학적 등급, 핵 분화도 등을 의미있는 예후인자로 제시하였다. 본 연구에서 비교 분석한 결과 원발종양의 크기가 2cm 이상인 경우 그 이하인 경우에 비해 미세전이가 유의하게 차이가 있었고( $p=0.026$ ), 병리조직학적 분류, 조직학적 등급, 핵 분화도, 에스트로겐 수용체 유무, 프로게스테론 수용체 유무, DNA ploidy, Bcl-2, C-erb-B2, Cyclin D1과는 의미있는 연



관성을 보이지 않았다.

미세전이가 예후에 미치는 영향은 논란의 대상이 되어 왔는데, 초기의 연구에서는 미세전이군이 생존율에 미치는 영향이 없는 것으로 보고되었으며 따라서 미세전이는 임상적인 의의가 없는 것으로 생각되었다. Pickren 등<sup>12)</sup>은 5년간 추적 관찰한 결과 전이가 없는 군과의 생존율의 차이를 발견하지 못하였다. 1971년 Huvos 등<sup>22)</sup>은 임의로 액와림프절 전이를 2mm를 기준으로 미세전이가 거시전이로 나누어 8년간 추적 관찰한 결과 미세전이군의 생존율이 거시전이군보다 생존율이 좋았으며 전이가 없는 군과는 비슷하였다. Attiyeh 등<sup>24)</sup>은 이들을 14년간 추적 관찰한 결과 미세전이군과 전이가 없는 군의 생존율의 차이는 없다고 하였다. Fisher 등<sup>13)</sup>도 5년간 추적 관찰한 결과 미세전이 유무에 따른 생존율의 차이는 발견하지 못하였다. 그러나 최근의 연구들은 초기의 결과와는 다른 결과를 보이고 있다. Rosen 등<sup>14)</sup>은 미세전이와 거시전이를 2mm의 기준으로 정하고, 원발부위의 종양을 2cm 기준으로 T1N1M0과 T2N1M0로 재분류하여 관찰하였다. 첫 3년후에 T1N1M0군의 거시전이군에서만 높은 재발율을 보였으나 통계적인 의의는 없었다. 또한 첫 6년 동안 미세전이의 유무에 따른 재발율과 생존율의 차이는 없었으나 추적 관찰 10년 후에는 통계적으로 유의한 차이가 있었으며 액와림프절 전이가 없는 군보다 예후가 나빴다. Rosen 등<sup>25)</sup>은 또 T1 유방암은 비록 미세전이가 2mm 이하 일지라도 10년 무병생존율과 전체생존율의 감소를 보인다고 하였다. Trojani 등<sup>17)</sup>도 평균 10년간의 추적 관찰한 결과 침윤성 관암종의 미세전이가 재발율과 생존율에 의미있는 영향을 미친다고 보고하였다. International (Ludwig) Breast Cancer Study Group의 연구<sup>15)</sup>는 1기(stage I) 유방암 921예를 연속절편과 H&E 염색을 시행하여 83예(9%)에서 전이를 발견하였다. 미세전이군의 5년 무병생존율은 58%로 림프절전이가 없는 유방암 군의 5년 무병생존율 74%와 비교하여 의미있는 차이가 있었고 전체생존율 역시 79%와 88%로 의미있는 차이가 있었다. 또한 미세전이가 있는 유방암군에서 수술 후 항암치료로 무병생존율의 증가가 관찰되었다. 이들은 한 개의 림프절 절편

의 H&E 염색을 이용한 통상적인 조직병리검사는 더 이상 임상적으로 유용하지 않다고 하였다. McGuckin 등<sup>20)</sup>의 연구도 5년간 추적 관찰한 결과 미세전이군에서 무병생존율과 전체 생존율의 의미있는 감소를 보였다. Wilkinson 등<sup>10)</sup>의 연구 결과는 미세전이가 생존율에 미치는 영향을 보여주는데 실패하였지만 100예 이상을 대상으로 하는 거의 모든 연구에서 생존율의 감소가 관찰되었고 연구의 대상수가 크고 추적 관찰기간이 길수록 미세전이가 예후에 나쁜 영향을 미치는 것으로 관찰되었다. 본 연구는 비교적 짧은 평균 20.6개월의 추적 관찰기간 때문에 대상군에서 사망한 예는 없었다. 면역조직화학적 검사에 의해 림프절에 미세전이가 발견된 8예에서 1예(12.5%)가 재발한 반면 미세전이가 없는 62예중 2예(3.2%)가 재발하여 미세전이군에서 재발율이 높았으나 통계적 의의는 없었다( $p = 0.223$ ).

미세전이의 예후와 관련하여 Clayton과 Hopkins<sup>26)</sup>는 미세전이에 두가지 유형이 있다는 가설을 제안하였다. 첫 번째 유형의 미세전이는 초기의 전이로 빠르게 성장하여 나쁜 예후를 나타내는 군이고 두 번째유형 미세전이는 강한 숙주반응이나 불충분한 혈관형성으로 전이된 종양이 성장하지 못하고 퇴화하는 군으로 나쁜 예후를 나타내지 않는 군이라고 하였다.

최근에는 연속절편과 면역조직화학적 검사보다 더 정확히 미세전이를 발견하기 위해 역전사 연쇄 중합효소 반응(reverse transcriptase polymerase chain reaction, RT-PCR)을 사용한 결과들이 발표되고 있다. Schoenfeld 등<sup>27)</sup>은 57개의 림프절을 검사하였는데 그 중 18개는 전이된 림프절이었고, 39개는 조직 검사상 전이가 없는 림프절이었다. PCR을 실시한 결과 전이가 있는 18개 림프절은 모두 양성반응을 보였고 조직검사상 전이가 없는 림프절 39개 중 4개에서 양성반응을 보였다. 35개 림프절중 Southern blot hybridization으로 10개가 양성반응을 보여 4 cycles의 RT-PCR과 Southern blot hybridization은 전이된 림프절과 정상림프절을 감별하는데 유용한 방법이라고 주장하였다. Mori 등<sup>28)</sup>과 Noguchi 등<sup>29)</sup>도 미세전이를 발견하는데 있어 CEA mRNA, MUC1 mRNA, keratin mRNA를 사용하여

RT-PCR의 유용성을 주장하였다. 이러한 RT-PCR은 다른방법에 비해 민감도가 높으나 위양성의 가능성을 배제하기 어렵고 이 방법으로 확인된 소량의 유전자 표현이 어떠한 임상적인 의의를 갖는지 아직은 검증되지 못한 상태이다. RT-PCR에서 종종 발견되는 널리 퍼진 종양세포의 임상적인 의의에 대하여는 아직 잘 알려진 것이 없다.

## 결 론

저자들은 액와 림프절의 전이가 없었던 유방암 환자 70예의 림프절을 대상으로 cytokeratin 항체를 이용한 면역조직화학적 검사를 실시하였다. 미세전이의 기준을 2mm이하로 정하였을 때 미세전이가 8예로 11.4%에서 관찰되었다. 70예 중에서 미세전이가 있는 8예 중 1예(12.5%), 액와림프절 전이가 없는 62예 중 2예(3.2%)가 재발하였다. 유방암의 액와 림프절 전이 유무를 통상적인 조직병리 검사만으로 결정하는 것은 불충분하다고 생각되며 액와림프절 음성인 유방암 환자에서 재발의 가능성이 있는 고위험군을 선별하기 위한 한 방법으로, 미세전이를 확인하기 위한 추가적인 검사가 필요하며, 현실적으로 면역조직화학적 검사가 유용한 방법이라고 생각한다. 이렇게 함으로써 예후를 예측하고 보조요법 사용에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- 1) Clark GM. Integrating prognostic factors. *Breast Cancer Res Treat* 22(3):187-91, 1992
- 2) Veronesi U, Cascinelli N, Greco M, Bufalino R, Morabito A, Galluzzo D, et al.; Prognosis of breast cancer patients after mastectomy and dissection of internal mammary nodes. *Ann Surg* 202(6):702-7, 1985
- 3) Dowlathshahi K, Fan M, Snider HC, Habib FA. Lymph node micrometastases from breast carcinoma: reviewing the dilemma. *Cancer*. 80(7):1188-97, 1997
- 4) Saphir O, Amromin G. Obscure axillary lymph node metastases in carcinoma of the breast. *Cancer* 1:238, 1948
- 5) 김광호, 남철현, 이기남, 이인종, 소경순, 강택림. 예방의학과 보건학 개정판. 계축문화사. 329-336, 1996
- 6) Fisher B, Redmond C, Dimitrov NV, Bowman D, Legault-Poisson S, Wickerham DL, et al. A randomized clinical trial evaluating sequential methotrexate and fluorouracil in the treatment of patients with node-negative breast cancer who have estrogen-receptor-negative tumors. *N Engl J Med*. 320(8):473-8, 1989
- 7) Fisher B, Costantino J, Redmond C, Poisson R, Bowman D, Couture J, et al. A randomized clinical trial evaluating tamoxifen in the treatment of patients with node-negative breast cancer who have estrogen-receptor-positive tumors. *N Engl J Med*. 320(8):479-84, 1989
- 8) Fisher B, Dignam J, Mamounas EP, Constantino JP, Wickerham DL, Redmond C, et al. Sequential methotrexate and fluorouracil for the treatment of node negative breast cancer patients with estrogen receptor-negative tumors: eight years results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP)B-13 and first report of findings from NSABP B-19 comparing methotrexate and fluorouracil with conventional cyclophosphamide, methotrexate and fluorouracil. *J Clin Oncol* 14(7):1982-92, 1996
- 9) Wilkinson EJ, Lawrence H. Probability in lymph node sectioning. *Cancer* 33(5): 1269-74, 1974
- 10) Wilkinson EJ, Hause L, Hoffman RG, Kuzma JF, Rothwell DJ, Donegan WL, et al. Occult axillary lymph node metastases in invasive breast carcinoma: characteristics of the primary tumor and significance of the metastases. *Pathol Annu* 17(Pt2): 67-91, 1982
- 11) Apostolikas N, Petraki C, Agnantis NJ The reliability of histologically negative axillary lymph nodes in breast cancer. *Pathol Res Pract* 184:35, 1989
- 12) Pickerman JW. Significance of occult metastases. A study of breast cancer. *Cancer* 14:1266-71, 1961



- 13) Fisher ER, Swamidoss S, Lee CH, Rockette H, Redmond C, Fisher B. Detection and significance of occult axillary node metastases in patients with invasive breast cancer. *Cancer* 42:2025-31, 1978
- 14) Rosen PP, Saigo P, Braun DW Jr, Beattie EJ Jr, Kinne DW. Occult axillary lymph node metastases from breast cancers with intramammary lymphatic tumor emboli. *Am J Surg Pathol.* 6(7):639-41, 1982
- 15) International(Ludwig) Breast Cancer Study Group. Prognostic importance of occult axillary lymph node micrometastases from breast cancer. *Lancet* 337(8749): 1110,1991
- 16) Trojani M, de Mascarel I, Bonichon F, Coindre JM, Delsol G. micrometastases to axillary lymph nodes from carcinoma of the breast. *Br J Cancer* 55(3): 303-6, 1987
- 17) Byrne J, Waldron R, McAvinchey D, Dervan P. The use of monoclonal antibodies for the histopathological detection of mammary axillary micrometastases. *Eur J Surg Oncol.* 13(5):409-11, 1987
- 18) Raymond WA, Leong A-Y. Immunoperoxidase staining in the detection of lymph node metastases in stage I breast cancer. *Pathology* 21(1):11-5, 1989
- 19) Nasser IA, Lee AKC, Bosari S, Saganich R, Heatley G, Silverman ML. Occult axillary lymph node metastases in node-negative breast carcinoma. *Hum Pathol* 24(9):950-7, 1993
- 20) McGuckin MA, Cummings MC, Walsh MD, Hohn BG, Benett IC, Wright RG. Occult axillary node metastases in breast cancer: their detection and prognostic significance. *Br J Cancer* 73(1):88-95, 1996
- 21) Bussolati G, Gugliotta P, Morra I, Pietribiasi F, Berardengo E. The immunohisto-chemical detection of lymph node metastases from infiltrating lobular carcinoma of the breast. *Br J Cancer* 54(4):631-6, 1986
- 22) Huvos AG, Hutter R, Berg JW. Significance of axillary macrometastases and micrometastases in mammary cancer. *Ann Surg* 173(1):44-6, 1971
- 23) Black RB, Robert M, Stewart HJ, Prescott R, Cant EL, Sumerling MD, et al. The search for occult metastases in breast cancer: does it add to established staging methods? *Aust N Z Surg* 750 (6):574-9, 1980
- 24) Attiyeh FF, Jensen M, Huvos AG, Fracchia A. Axillary micrometastasis and macrometastasis in carcinoma of the breast. *Surg Gynecol Obstet.* 144 (6):839-42, 1977
- 25) Rosen PP, Saigo P, Braun DW, Weathers E, Kinne DW. Prognosis in stage II(T1N1Mo) breast cancer. *Arch Surg* 194(5):576-84, 1981
- 26) Clayton F, Hopkins CL. Pathologic correlates of prognosis in lymph node positive breast carcinomas. *Cancer* 71(5): 1780-90, 1993
- 27) Schoenfeld A, Luqmani Y, Smith D, O'Reilly S, Shousha S, Sinnett HD, Coombes RC. Detection of breast cancer micrometastases in axillary lymph nodes by using polymerase chain reaction. *Cancer Res.* 54(11):2986-90, 1994
- 28) Mori M, Momori K, Inoue H, Barnard GF, Tsuji K, Nanbara S et al. Detection of cancer micrometastases in lymph nodes by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Cancer Res* 55 (15):3417-20, 1995
- 29) Noguchi S, Aihara T, Motomura K, Inaji H, Koyama H. Detection of breast cancer micrometastases in lymph nodes by amplification of keratin 19 mRNA with reverse-transcriptase polymerase chain reaction. *Gan To Kagaku Ryoho.* 23 Suppl 1: 50-5, 1996