

□ 원 저 □

원발성 비소세포 폐암에서 PCNA의 발현 정도와 암세포의 분열능 및 생존률과의 관계

원광대학교 의과대학 내과학교실

양세훈, 김학렬, 구기선, 정병학, 정은택

= Abstract =

Correlation of Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) Expression and S-phase Fraction, Survival Rate in Primary Non-Small Cell Lung Cancer

Sei Hoon Yang, M.D., Hak Ryul Kim, M.D., Ki Seon Gu, M.D.,

Byung Hak Jung, M.D. and Eun Taik Jeong, M.D.,

Department of Internal Medicine, Wonkwang University College of Medicine, Iksan, Korea

Background : To study the prognosis of patients with lung cancer, many investigators have reported the methods to detect cell proliferation in tissues including PCNA, thymidine autoradiography, flow cytometry and Ki-67. PCNA, also known as cyclin, is a cell related nuclear protein with 36KD intranuclear polypeptide that is maximally elevated in S phase of proliferating cells. In this study, PCNA was identified by paraffin-embedding tissue using immunohistochemistry which has an advantage of simplicity and maintenance of tissue architecture. The variation of PCNA expression is known to be related with proliferating fraction, histologic type, anatomic(TNM) stage, degree of cell differentiation, S-phase fraction and survival rate. We analyzed the correlation between PCNA expression and S-phase fraction, survival.

Method : To investigate expression of PCNA in primary lung cancer, we used immunohistochemical stain to paraffin-embedded sections of 57 resected primary non-small cell lung cancer specimen and the results were analyzed according to the cell type, cell differentiation, TNM stage, S-phase fraction and survival.

Results :

PCNA expression was divided into five group according to degree of staging(-, +, ++, +++, +++++).

Squamous cell type showed high positivity than in adenocarcinoma.

Nonsignificant difference related to TNM stage was noticed.

Nonsignificant difference related to degree of cell differentiation was noticed.

*이 논문은 96년도 원광대학교의 교비지원에 의해서 연구됨

S-phase fraction was increased with advance of PCNA positivity, but it could not reach the statistic significance.

The 2 year survival rate and median survival time were - 50% 13 months, +75% 41.3 months, ++73% 33.6 months, +++67% 29.0 months, ++++25% 9 months with statistic significance ($P < 0.05$, Kaplan-Meier, generalized Wilcox).

Conclusion : From this study, PCNA expression was high positive in squamous cell cancer. And, there was no relationship between PCNA positivity and TNM stage, cellular differentiation or S-phase fraction. But, the patients with high positive PCNA staining showed poor survival rate than the patients with lower positive PCNA staining ($p < 0.05$).

It was concluded that PCNA immunostaining is a simple and useful method for survival prediction in paraffin embedded tissue of non-small cell lung cancer.

Key words : PCNA, S-phase fraction, Survival, Lung cancer

서론

인체의 원발성 폐암은 최근 여러 가지 치료법의 개발에도 불구하고 아직까지는 예후가 좋지 않은 종양에 포함된다. 폐암의 병인 규명과 근본적 치료의 발전은 만족스럽지 않으나, 그 동안의 축적된 임상 경험의 분석에 힘입어 임상과정 및 예후가 비교적 정리되었으며, 분자 생물학의 발전에 의하여 종양의 생물학적 특성의 많은 규명이 있어 왔다. 폐암의 분류는 편평상피암, 선암, 소세포암, 그리고 대세포암으로 나뉘어지며, 이중 소세포암의 빠른 성장률과 조기 전이성이 다른 폐암과 크게 대조되므로, 소세포암과 비소세포암군으로 양분된다¹⁾.

지금까지 폐암의 치료계획과 예후판단에는 조직병리학적 소견, TNM의 해부학적 병기, performance status scale(PS scale)의 생리적 병기가 주로 채택되어 왔다¹⁾. 더욱 나아가 최근에는 종양세포의 생물학적 특성을 반영하는 여러 인자들을 사용하여 예후추정에 이용하려는 시도가 이루어지고 있다. 특히 세포의 분열능에 대한 측정방법이 최근 잇달아 개발됨에 따라 종양세포의 분열증식능이 직접적으로 계측되고 있다. 종양세포의 분열능 계측방법에는 유사분열지수(mitotic index), thymidine autoradiography, bro-

modeoxyuridine labelling index, Ki-67 labelling index 및 유식세포분석법(flow cytometry)에 의한 S-주기 비율 등이 이용되고 있다²⁾. 이런 방법들 중, 유사분열지수는 재현성이 약하고, bromodeoxyuridine, Ki-67 labelling index, thymidine autoradiography는 세포분열주기중 S-주기 비율을 비교적 정확히 계측할 수 있으나, 즉시 채취한 신선조직에만 이용이 가능하며, 유식세포 분석법은 paraffin 보관 조직도 가검물로서 이용 가능하나, 조직이나 세포의 형태를 유지시킬 수 없는 단점이 있다³⁾.

36k Dalton의 산성 핵단백질인 PCNA(proliferating cell nuclear antigen)는 DNA 합성의 조효소이며, DNA polymerase delta의 구성원으로서 cyclin이라고도 불리웠다⁴⁾. PCNA는 세포분열주기중 S-주기에서 주로 생성되는 물질로서, 분열되는 세포에만 발현되며, 정지기의 세포에는 발현되지 않는다⁵⁾. 그리고 PCNA는 단클론항체(monoclonal antibody)로서 손쉽게 paraffin 보관조직을 이용하여 면역조직화학법(immunohistochemistry)으로서, 조직이나 세포의 형태를 유지하면서 세포의 분열능을 측정할 수 있다⁵⁾. 그리고 PCNA로 측정한 세포분열능은 Ki-67 등의 다른 방법과 비교하여, 정확성에 차이가 없음이 인정되고 있다. 세포분열주기중 S-주기 비율

이 폐암에서 임상적 예후추정 인자로서의 가능성은 인정되어 온 것이다^{3~6)}. 이 S-주기 비율과 PCNA는 비례관계에 있음을 쉽게 생각할 수 있다.

이에 저자들은 폐암조직에서 면역조직화학법으로 PCNA의 발현정도를 계측하고, PCNA 발현정도를 S-주기 비율로서 그 정확성을 확인하고, 더 나아가 중앙세포의 분열능을 반영하는 PCNA의 발현정도가 폐암의 생존률 및 예후에 미치는 영향을 확인하였다.

대상 및 방법

1. 대상

대상군은 본 병원에서 원발성 비소세포 폐암으로 확진 후 치료목적의 외과적 절제술에 의해 채취되어 paraffin에 보관된 57례의 폐암 조직절편을 사용하였다. 평균 연령은 60세였으며, 남녀비는 43:14였고, 조직학적 분류는 편평상피암 38례, 선암이 16례, 대세포암이 3례였으며, TNM 병기상, I 병기가 14례, II 병기가 21례, III 병기가 22례였다 (Table 1, 2).

2. 방법

대상 가검물은 paraffin에 보관된 조직을 4 micro m.로 절편한 후, histoclear 용액으로 paraffin을 제거한 다음 100%, 95%, 75%, 50% ethanol에 연속적으로 처리하여 재수화 시킨 후, 비특이적 peroxidase 작용을 차단기 위해 3% H₂O₂로 처리한 후 증류수에 담근 다음 PBS(phosphate buffer solution)으로 세척한 후, 비특이적 항체 결합을 막기 위해 non-immune goat serum(5%, pH 7.6)으로 20분간 처리한 후, 일차 항체를(PCNA, Dako, Carpenteria, USA) 40℃에서 반응시켰다. 이후의 반응은 면역화학 염색법의 공통적인 것으로서, Biotin이 결합된 2차 항체를 작용시키고, Avidin이 결합된 peroxidase reagent를 반응시키면 Biotin과 Avidin이 결합되어 PCNA에 peroxidase가 부착된다. 여기에 3-amino-9-ethylcarbazole과 반응하여갈색반응을 일으키게 한 후 Hematoxylin-Eosin 염색으로 대조 염색시킨 후 PCNA의 발현을 확인하였다. slide를 광학현미경으로 검색하여 5%미만의 핵이 염색되

Table 1. PCNA Expression of Lung Cancer by Cell Type

PCNA Cell type	-	+	++	+++	++++	Total
Squamous	1	1	12	16	8	38
Adeno	1	5	7	3	0	16
Large cell	0	2	0	1	0	3

Table 2. PCNA Expression of Lung Cancer by TNM stage

PCNA Stage	-	+	++	+++	++++	Total
I	0	1	4	7	2	14
II	1	3	6	8	3	21
III	1	4	9	5	3	22



Fig. 1. Tumor cells show negative reaction to PCNA Ab. stain (HE counterstain, 400X)

있을 경우를 음성반응으로, 25%까지는 +, 50%까지는 ++, 75%까지는 +++, 75%이상은 ++++로 판별하였다(Fig 1, 2, 3). 해당 병리조직의 세포 분열주기의 측정을 위한 실험방법은 다음과 같다. paraffin 보관 조직을 절편하여 paraffin 제거와 재수화 시킨후 0.5% pepsin 용액에 처리하여 단일세포 부유액을 만든다. 채취된 단일세포 부유액은 phosphate buffer saline(pH 7.2)으로 세척한 후 세포수가 $10^6/\text{ml}$ 정도로 되게 조정후 propidium iodide (Sigma Co.) 용액으로 DNA를 염색한 후 RNase를 이용하여 RNA를 제거하였다. propidium iodide 용액에 의한 염색이 끝난 후 단일세포 부유액은 40 micro m.의 nylon망으로 거른 후 전체 세포수가 10^4 정도이면 시료로서 분석이 가능하였다. 사용된 유식세포 분석기는 FACStar(Fluorescent Activated Cell Sorter, Becton Dickinson Immunocytometry System, USA)로서 488nm의 파장을 발

산하는 Argon LASER를 갖추고 있다. DNA양을 측정하기 위해 사용되는 DNA 염색물질인 propidium iodide는 488nm의 파장에서 610nm의 파장으로 작동되는 형광물질로서, 형광의 발하는 강도에 따라 DNA양을 측정할 수 있다. 시료의 신뢰도를 위해서 CV(Coefficient of Variation)가 8이하인 경우만을 채택하였으며, FACStar에 내장되어진 BDIS (Becton Dickinson Immunocytometry System)에 의한 Consort 30 program을 이용하여 세포분열주기의 histogram을 얻은 후 S-주기 비율을 계산해 내었다 (Fig 4).

폐암의 병리조직형, TNM 병기, 세포의 분화도 및 S-주기비율에 따른 PCNA 발현률의 비교는 Chi-square로 하였으며, 2년 생존률과 중간생존기간은 Kaplan-Meier로서 구하였으며, 각 군간의 생존률 비교는 generalized-Wilcox로 비교하였다.

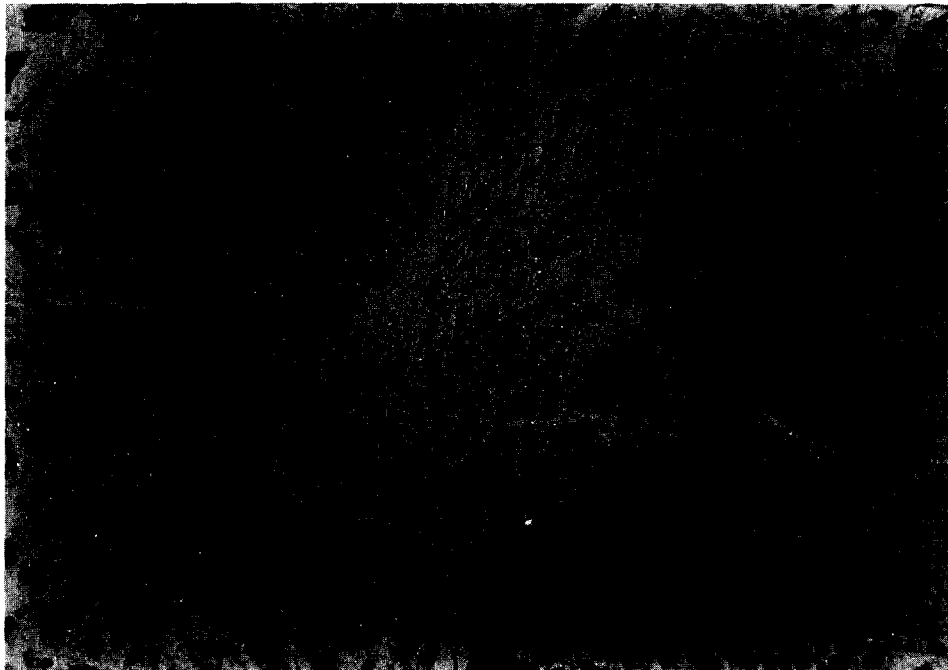


Fig. 2. Tumor cells show weak positive reaction to PCNA Ab. stain (HE counterstain, 400X)

결 과

1. 병리조직형에 따른 PCNA의 발현률

총 57례중 55례에서 양성으로 나왔으며, +++ 이상의 강양성 반응은 편평상피암이 38례중 24례(63%), 선암이 16례중 3례(19%), 대세포암이 3례중 1례(33%)로서, 비교적 유의하게 편평상피암의 강양성 발현이 높았다 (Table 1).

2. TNM 병기에 따른 생존률 및 PCNA의 발현률

종양의 진행정도를 반영하는 수술후 TNM 병기에 따른 2년 생존률 및 중간생존기간은 I 병기(14례)가 84%, 62개월, II 병기(21례)가 65%, 43개월, III 병기(22례)가 39%, 21개월로서, 각 병기별로 유의한 차이를 보여주었다 ($p < 0.05$, Kaplan-Meier,

generalized Wilcox). 그리고 각 병기에 따른 PCNA 발현률의 유의한 차이는 찾을 수 없었다 (Table 2). 즉 PCNA 발현은 폐암의 해부학적 병기와는 관계없음을 확인하였다.

3. 세포분화도에 따른 PCNA의 발현률

세포분화도에 따른 강양성 발현률은 과분화도(well differentiated)가 14례중 3례(21%), 보통 분화도(moderately differentiated)가 23례중 13례(57%), 미분화도(poorly differentiated)가 20례중 12례(60%)로서 분화가 안될수록 강양성은 높은듯하나 통계적 유의성에 이르지 못하는 못하였다 (Table 3).

4. PCNA 발현정도에 따른 S-주기 비율의 비교

PCNA 발현률 - 군의 S-주기 비율은 $17.9 (\pm 0.0)$

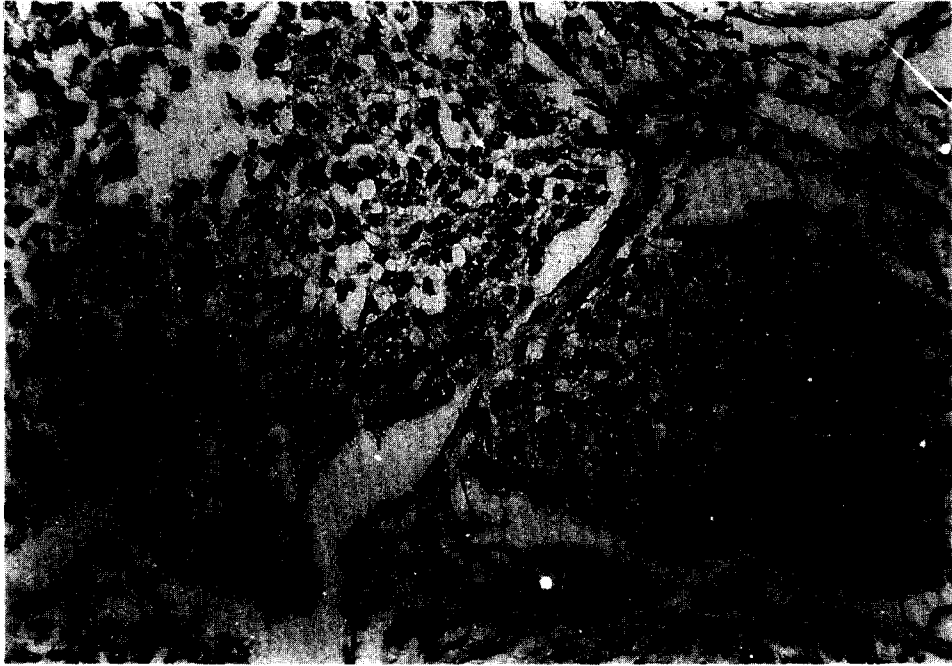


Fig. 3. Tumor cells show strong positive reaction to PCNA Ab. stain (HE counterstain, 400X)

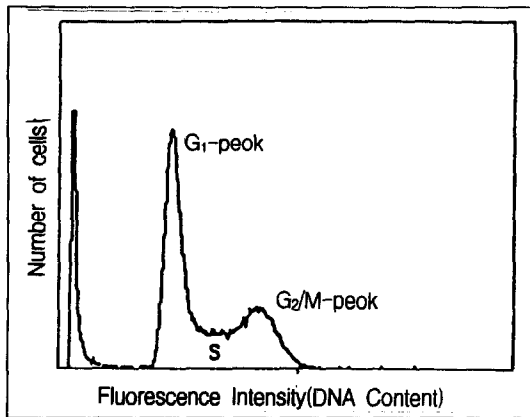


Fig. 4. Histogram of cell proliferation cycle by flow cytometer

%, +군은 18.3(\pm 9.7)%, ++군은 18.6(\pm 11.1)%, +++군은 19.7(\pm 9.0)%, ++++군은 24.7(\pm 8.2)%로서 PCNA의 발현이 증가할수록, 통

계적 유의성에 이르지 못하는 못하였으나, S-주기 비율은 비례하여 증가하였다 (Table 4).

5. PCNA 발현정도에 따른 생존률의 비교

TNM 병기별로, PCNA 발현정도에 따른 생존률의 비교는 각각 해당군의 대상례가 적어서 통계적 유의성은 찾지 못했으나, 전 대상군에 있어서 PCNA 발현 정도에 따른 2년 생존률은 -군이 50%, +군이 75%, ++군이 73%, +++군이 67%, ++++군이 25% 였으며, 역시 PCNA의 발현정도에 따른 중간생존기간은 -군이 13.0개월, +군이 41.3개월, ++군이 33.6개월, +++군이 29.0개월, ++++군이 9개월로서, PCNA의 발현이 높을수록 2년 생존률과 중간생존기간이 불량한 관계를 통계적으로 유의하게 보여주고 있다 ($p < 0.05$, Kaplan-Meier, generalized-Wilcoxon) (Table 5).

Table 3. PCNA Expression of Lung Cancer by Cell Differentiation

PCNA \ Differentiation	-	+	++	+++	++++	Total
Well	1	5	5	3	0	14
Moderately	0	1	9	10	3	23
Poorly	1	2	5	7	5	20

Table 4. S-phase Fraction according PCNA Expression

PCNA	-	+	++	+++	++++
S-phase fraction (%)	17.9 (± 0.0)	18.3 (± 9.7)	18.6 (± 11.1)	19.6 (± 9.0)	24.7 (± 8.2)

(mean \pm S.D) $p > 0.05$

고 찰

종양의 생물학적 특성을 파악하려는 기법은 최근 들어 발전을 더해 가고 있다. 이미 기술한 바와 같이 bromodeoxyuridine labelling index와 thymidine autoradiography로서 조직배양으로 세포를 성장시키는 가운데 세포 분열의 실질적 지표인 S-주기 비율을 측정하였다. 이어 Ki-67의 단클론항체를 이용하여 분열세포의 Ki-67 항원을 면역조직화학법으로 발현시켜 세포의 분열능을 계측하였다. 이 Ki-67 면역조직화학법은 조직배양이 필요없다는 장점이 있으나, 신선동결조직에만 이용이 가능하다는 단점이 있다. 최근 들어 유식세포 분석법에 의해서 DNA histogram (Fig 4)이 비교적 용이하게 밝혀졌다. 유식세포분석법의 DNA histogram에 의한 S-주기 비율은 paraffin 보관 조직의 이용이 가능하여 매우 편리하고 가장 정확한 방법이나, 병리조직의 원형이 유지될수 없다는 단점이 있다.

그래서, 이런 방법들의 단점을 해결할 수 있는 새로운 방법을 갈구하던 중 PCNA 염색법이 등장하였다⁹⁾. PCNA 염색법은 조직의 손상없이, 신선조직뿐 아니라, paraffin 보관조직도 처리가 가능하다는 장점들

이 있다. PCNA는 SLE의 자가항체로서 처음 소개 되었으며⁷⁾, 이어 Bravo 등⁴⁾에 의해서 DNA polymerase delta의 조효소임이 규명되었고, 세포분열 주기 중 S-주기에 생성됨이 밝혀졌다. PCNA는 핵염색의 형상에 따라 두가지로 규정하는데, S-주기에만 생성되어 핵내에 과립(granule)양상으로 염색되는 것과 S-주기 외에 G₂, G₀주기에 일부 생성되어 핵내에 미만상(diffuse)으로 염색되어지는 것이 있다⁸⁾. PCNA가 S-주기에만 특이적인가, S-주기외에도 생성되는 것인가 하는 문제는 조직의 고정방법과 항체의 종류에 따라 다르다고 Garcia 등⁹⁾은 설명하고 있다. PCNA의 항체는 19A2와 PC10이 있는데, 19A2는 알코올 고정조직에 사용하고, PC10은 포르말린 고정조직에 사용한다. 19A2가 세포분열의 반영률이 높은 즉 S-주기 특이성이 높다고 하였으나, Theunissen 등¹⁰⁾은 포르말린으로 고정하여도 고정시간이 48시간 이하라면 PC10으로 염색하여도 S-주기 특이성이 양호함을 mitotic index로서 설명하였다. 그리고 PCNA의 반감기가 20시간이고, 일반 세포의 S-주기가 12시간 정도이므로, 미량의 PCNA가 S-주기후에도 G₂ 주기에 잔존하여 핵내의 미만상으로 나타날 수 있다¹¹⁾. Carey 등¹²⁾과 Dierendonck 등¹³⁾

Table 5. Survival Rate of Lung Cancer according to PCNA Expression

PCNA	-	+	++	+++	++++
2 year survival (%)	50	75	73	67	25
Median survival time (month)	13	41.3	33.6	29.0	9

p<0.05 Kaplan-Meier, generalized Wilcox

은 PCNA의 발현정도를 유식세포 분석법과 bromo-deoxyuridine 및 Ki-67 labelling index로서 서로 일치함을 증명하였다. 이상에서 설명한 바와 같이 PCNA 발현정도가 세포분열의 지수로서 인정받게 되었다.

결과적으로 PCNA 발현정도 역시 종양의 성장률을 반영하므로써 예후인자로서의 효용 가능성에 대한 연구가 가능하다. 처음 Lee 등은 PCNA가 폐암에서 발암과정 및 조직의 암화과정의 지표로서 유용하다 하였고¹⁴⁾, PCNA가 비소세포 폐암에서 종양세포의 분열능을 반영하나, 전반적인 생존률의 예측인자로서는 인정하지 못하였다¹⁵⁾. 그러나 Kawai 등¹⁶⁾은 비독립적 예후인자로서 유의성을 보고하였고, Fontanini¹⁷⁾ 등도 PCNA의 예후인자로서의 유의성을 보고하였다. 이에 지금까지의 보고와 저자들의 결과를 비교해 보기로 한다. 폐암에서의 PCNA는 어느 종양세포에서도 미약하나마 발현은 되는 것으로 알려져 있다¹²⁾. 즉 발현의 양·음성은 의의가 없고 발현의 정도가 의의 있다 하겠다. Fontanini 등¹⁸⁾은 전체 폐암에서 PCNA가 발현되었으며 발현률의 평균은 37.7(±23.6)%라 하였다. 저자들의 결과도 발현률 5%를 탈락치로 하였을 때 96%(55/57)에서 발현되었다. 병리조직형별로 발현률의 정도를 비교 하였을 때, Carey 등¹²⁾은 편평상피암이 선암보다 발현률이 유의하게 높았고, Shackney 등¹⁹⁾도 역시 같은 내용의 보고를 하였다. 그러나 Kawai 등¹⁶⁾ 및 Fontanini 등¹⁸⁾은 병리조직형에 따른 발현률의 차이는 없다 하였다. 국내에서도 김 등²⁰⁾은 편평상피암에서 비편평상피암보다 발현률이 높았다고 보고하였다. 저자들의 경우에는 +++ 이상의 강양성 반응이 편평상피암(63%)에서 선암(

19%), 대세포암(33%)보다 유의하게 높았다(Table 1). 알려진 바와 같이 종양폐가 시간이 편평상피암이 87일이며, 선암이 134일인 것을 감안하면, 편평상피암이 선암보다 PCNA 발현률이 높을 것으로 예상할 수 있다¹¹⁾.

종양의 진행 즉 TNM 병기와의 관계에 대한 보고를 살펴보면, Fontanini 등¹⁸⁾은 PCNA 발현률이 N0가 19.8%, N1, 2가 33.7%로서 유의한 차이가 있음을 보고하였고, Kawai 등¹⁶⁾도 주위 림프절 전이가 진행할수록 원발병소의 종양조직의 PCNA 발현률이 높다 하였다. 김 등²⁰⁾에 의하면 TNM 병기가 진행할수록 발현이 높았고, N1(50%)에 비해 N2(67%)도 높았으나 유의성은 없었다. 그러나 저자들의 경우에는 TNM 병기에 따른 PCNA 발현률의 차이는 발견할 수 없었다 (Table 2). 즉 PCNA 발현은 폐암의 해부학적 병기와는 관계없음을 확인하였다.

세포분화도에 따른 PCNA 발현률의 차이를 살펴보면 Kawai 등¹⁶⁾은 차이없다고 하였고, 저자들의 경우에도 미분화일수록 발현률은 높으나 유의성에 이르지 못하였다 (Table 3).

세포분열에 있어서 PCNA의 발현정도와 S-주기 비율은 비교적 일치한다고 이에 전술하였다^{12,13)}. 역시 폐암조직에서 Fontanini 등¹⁸⁾은 서로 유의하게 일치한다고 하였으며, Kawai 등¹⁶⁾도 유의하게 일치한다고 하였다. 그러나, 저자들의 결과에 의하면 PCNA 발현률이 높을수록 S-주기 비율도 증가하여 세포분열능의 정도를 반영하였으나, 대상례가 충분치 못하여 통계적 유의성을 보이지는 못하였다 (Table 4).

PCNA의 예후인자로서의 의의를 찾아보기 위한 보고들에 의하면 Kawai 등¹⁶⁾은 PCNA가 예후인자로

서 유의성이 ($p=0.02$) 있으나, 다변량분석에 의한 독립적 예후인자로서는 인정치 못하였다(Cox proportional hazard model). 그러나 Fontanini 등¹⁷⁾은 다변량분석에 의해서도 PCNA가 독립적인 예후인자라고 보고하였다 ($p=0.03$). 김 등²⁰⁾은 1년 생존률만을 비교하였을 때 PCNA 발현률의 정도에 따른 생존률의 차이는 없다 하였다. 저자들의 경우에는 2년 생존률과 중간 생존기간을 비교하였을 때 전체적으로 유의하게 PCNA의 발현이 높을수록 2년 생존률이 감소했으며, 중간 생존기간 역시 감소됨을 확인하였다 (Table 5).

요 약

연구배경 :

종양세포 성장의 역동학적 성상은, 종양의 분열능을 직접적으로 반영하므로 종양의 예후 예전에 임상적 의의가 있다. PCNA는 DNA 합성에 관여하는 36KD의 핵단백질로서, 종양 조직에서 면역조직화학적 방법으로, 그 발현 정도를 계측하여 종양세포 증식 정도의 반영으로서 이용하고 있다. 이에 저자들은 폐암의 조직에서 면역조직화학적 방법으로 PCNA의 발현 정도를 계측하고, 세포의 분열능을 반영하는 다른 분자생물학적 인자 즉 S-주기비율과의 관계를 확인하고, PCNA의 발현 정도에 따른 폐암환자들의 생존률을 검색하였다.

방 법 :

대상군은 원발성 비소세포 폐암으로 확진 받고, 외과적 절제술 후 파라핀에 보관된 57례의 폐암 조직을 사용하여 면역조직화학 염색법으로 PCNA의 발현을 암세포형, TNM 병기, 세포 분화도, S-주기 비율과 생존률과의 관계를 분석하였다.

결 과 :

본 병원에서 외과적 절제술을 시행한 57례중 남녀비는 43:14였고, 평균연령은 60세였다. PCNA의 발현 정도는 25%를 기준으로 하여 -, +, ++, +++, +++++ 로 구분하였다.

PCNA의 발현은 편평상피암에서 선암보다 강하게 발현되었으며, TNM 병기에 따른 PCNA 발현의 차이는 없었다.

세포의 분화도에 따라서 미분화일수록 PCNA의 발현 정도는 높았으나, 유의한 차이는 없었다.

S-주기 비율은 - 17.9%, + 18.3(± 9.7)%, ++ 18.6(± 11.1)%, +++ 19.6(± 9.0)%, ++++ 24.7(± 8.2)% 였으나 서로간의 유의성있는 차이는 없었다.

PCNA의 발현 정도에 따른 2년 생존률과 중간 생존기간은 - 50% 13.0개월, + 75% 41.3개월, ++ 73% 33.6개월, +++ 67% 29.0개월, ++++ 25% 9개월로서 서로간에 유의한 차이를 보여주고 있다 ($P<0.05$, Kaplan-Meier법, generalized Wilcox).

결 론 :

비소세포 폐암에서 PCNA의 발현 정도는 편평상피암에서 선암보다 높았고, TNM 병기와 세포분화도에 따른 차이는 없었다. PCNA 발현 정도에 따라 S-주기 비율은 증가한 듯하나 유의성은 없었다. PCNA 발현이 높을수록 2년 생존률과 중간 생존기간은 유의하게 불량하였다. 즉 결과적으로 PCNA 염색법은 비소세포폐암의 예후인자로서의 이용이 가능하리라 생각된다.

참 고 문 헌

1. Minna JD, Ginsberg RJ, Ihde DC : Chapter 30, Cancer of lung, In DeVita VD (Ed.) Cancer, 5th Ed., p849, Philadelphia, JB Lippincott 1997
2. Merkel DE, McGuire WL : Ploidy, proliferative activity and prognosis. Cancer 65 : 1194, 1990
3. Isobe H, Miyamoto H, Shimizu T, Haneda M, Hashimoto M, Inoue K : Prognostic and therapeutic significance of the flow cytometric nuclear content in non-small cell lung cancer. Cancer 65 : 1391, 1990

4. Bravo R, Frank R, Blundell PA, MacDonald-Bravo H : Cyclin/PCNA is the auxillary protein of DNA polymerase alpha. *Nature* 326:515, 1987
5. Kurki P, Ogata K, Tan EM : Monoclonal antibodies to proliferating cell nuclear antigen (PCNA)/cyclin as probes for proliferating cells by immunofluorescence microscopy and flow cytometry. *J Immunol Methods* 109 : 49, 1988
6. 정병학, 강정성, 장 근, 정은택, 정현택, 문형배 : 편평상피성 폐암에 있어서 S-phase fraction과 생존기간과의 관계. *결핵 및 호흡기 질환* 40 : 669, 1993
7. Miyachi K, Frizler MJ, Tan EM : Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. *J Immunol* 121 : 2228, 1978
8. Bravo R. MacDonald-Bravo H : Existence of two populations of cyclin/proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle : association with DNA replicon sites. *J Cell Biol* 105 : 1549, 1987
9. Garcia RL, Coltrera MD, Gown AM : Analysis of proliferative grade using antiPCNA/Cyclin monoclonal antibodies in fixed, embedded tissues. *Am J Pathol* 134 : 733, 1989
10. Theunissen PHMH, Leers MGG, Bollen ECM : Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression in formalin-fixed tissue of non-small cell lung carcinoma. *Histopathology* 20 : 251, 1992
11. Celis JE, Celis A : Cell cycle-dependent variations in the distribution of the nuclear protein cyclin proliferating cell nuclear antigen in cultured cells : Subdivision of S phase. *Proc Natl Acad Sci USA* 82 : 3262, 1985
12. Carey FA, Fabbroni GF, Lamb D : Expression of proliferating cell nuclear antigen in lung cancer : A systemic study and correlation with DNA ploidy. *Histopathology* 20 : 499, 1992
13. Dierendonck JH, Wijsman JH, Keijer R, Velde CJH, Corneliss CJ : Cell cycle related staining pattern of anti-proliferating cell nuclear antigen monoclonal antibodies. *Am J Pathol* 138 : 1165, 1991
14. Lee JS, Lippman SM, Hong WK, Ro JY, Kim SY, Lotan R, Hittleman WN : Determination of biomarkers for intermediate end points in chemoprevention trials. *Cancer Res (Suppl)* 52 : 2707s, 1992
15. Lee JS, Ro JY, Sahin A, Hong WK : Quantitation of proliferating cell fraction in non-small cell lung cancer using immunostaining for PCNA, *Proc Am Assoc Cancer Res* 31 : 22, 1990
16. Kawai T, Suzuki M, Kono S, Shinomiya N, Rokutanda M, Tahagi K, Ogata T, Tamai S : PCNA and Ki-67 in Lung Carcinoma. *Cancer* 74 : 2468, 1994
17. Fontanini G, Macchiarini P, Pepe S, Ruggiero A, Hardin M, Bigini D : The expression of proliferating cell nuclear antigen in paraffin sections of peripheral, node-negative non-small cell lung cancer. *Cancer* 70 : 1520, 1992
18. Fontanini G, Pingitore R, Bigini D, Vignati S, Pepe S, Ruggiero A : Growth fraction in non-small cell lung cancer estimated by proliferating cell nuclear antigen and comparison with Ki-67 labelling and DNA flow cytometry data. *Am J Pathol* 141 : 1285, 1992
19. Shackney SE : Tumor cell population biology of lung cancer. In McDowell EM(Ed.) *Lung Carcinomas*. p 355 Edinburgh, Churchill Livingstone 1987
20. 김신영, 이경주, 홍석철, 한표성, 이종진, 조해정, 김주옥 : 폐암조직에서의 PCNA 발현에 관한 연구. *결핵 및 호흡기 질환* 40 : 23, 1993