

유방암 제 2 병기 환자에서 림프절 미소전이가 예후에 미치는 영향

계명대학교 의과대학 일반외과학 교실 및 경북대학교 병리학 교실*

강 구 정·김 혁 태·정 기 용
김 유 사·이 상 한*·서 인 수*

=Abstract=

Micrometastases of Axillary Lymph Nodes from Stage IIa Breast Cancer: Immunohistochemical Detection and Prognostic Significance

Koo Jeong Kang, M.D., Hyung Tae Kim, M.D., Ki Yong Chung, M.D.
You-Sah Kim, M.D., Sang Han Lee, M.D.* and In-Soo Suh, M.D.*

Department of Surgery, School of Medicine, Keimyung University

*Department of Pathology, School of Medicine, Kyungbuk National University**

This study was performed to identify the cancer cells in lymph nodes taken from women stage IIa breast cancer using routine hematoxyline-eosin(HE) stains.

Six hundred and thirty-four lymph nodes were taken from 42 cases of breast cancer. Among these, 31 cases were negative for lymph nodes metastasis and 11 were positive for lymph node metastasis. All 634 lymph nodes were immunostained.

Eight of 11 patients(72.7%) who had positive lymph nodes had at least one or more nodes stained by anti-epithelial membrane antibody and 7 of 11 patients(63.6%) who had positive nodes had at least one or more nodes stained by anti-cytokeratin(PAN-CK) antibody. Of the 31 cases of negative lymph nodes, 2 cases of occult micrometastases were detected by immunohistochemical stains. One of the 2 cases was stained by only one monoclonal antibody. In the follow up study(a mean of 59.9 months), there were no important prognostic factors for 5 year survival rates according to the following 3 categories: age(<40 years vs. >=40 years), tumor size(<2.0 cm vs. >=2.0 cm), and immunohistochemical stain. The presence of metastatic axillary lymph node was the most important prognostic factor for 5 year disease free survival($p=0.05$). The immunohistochemical stain of the axillary lymph nodes was not significant for 5 year overall and disease free survival. One of the 2 patients who had negative axillary nodes by HE stain but positive nodes by immunohistochemical stains had a recurrence within 4 years and 11 months after mastectomy. Immunohistochemical stain for axillary lymph nodes of patients without lymph node metastases is a useful tool for detecting occult micrometastases, however, it is not helpful as a prognostic factor.

Key Words: Breast cancer, Micrometastasis, Immunohistochemical stain, Prognosis

서 론

유방암의 예후 인자로는 액와 림프절 전이 여부가 가장 중요한 것으로 알려져 있고 그 외 조직학적 형태, 종양의 크기, 핵분화도, ER/PR 발현 여부 등이 있으며 최근 몇 년 사이에는 유전자 발현 여부와 예후 와의 연관성이 활발히 연구되고 있다. 액와 림프절 전이가 없는 경우도 근치적 절제수술 후 수년내에 국소 재발이나 액와 림프절 부위에 25~35%에서 재발하는 것으로 보고되고 있다¹⁾. 이것에 대하여 암조직은 생물학적 다양성(heterogeneity)을 가지고 있다고 설명하기도 하며²⁾. 기존의 검사법으로 발견되지 않는 미소전이가 수술 이전에 액와 림프절, 골수 및 다른 장기에 이미 있었다는 연구도 있다^{3,4)}. 액와 림프절 전이가 없는 경우 근치수술 후 부가적인 치료방침의 선택에 있어서도 다양한 의견이 보고되어 왔다. 이런 문제점들을 해결하기 위해 1985년 미국 NIH 합의 도출회의에서 액와 림프절 전이가 없는 경우에 대해서는 술 후 표준 치료법에 대한 결론을 내리지 못했으며⁵⁾ 1991년 NCI 합의 도출 회의에서도 액와 림프절 전이, 종양의 크기 및 조직학적 형태 이외의 예후인자를 제시하지 못하였다⁶⁾. 그렇지만 많은 연구자들은 면역조직화학적 방법이나 분자생물학적 방법으로 종양, 액와 림프절 혹은 골수 세포를 취하여 각종의 연구를 시행하여 각기 다른 성적을 보고하고 있는 실정이다.

근래에는 통상적인 병리학적 검사로는 발견할 수 없는 작은 전이소 즉 미소 전이에 대하여 관심이 높리고 있고 미소전이를 찾기 위한 노력이 이루어져 왔다. 그 주류는 골수 세포나 액와 림프절에 면역조직화학법을 이용하여 미소전이소를 발견하려는 것이다. 수술중 골수 흡인 천자 검사에서 액와 림프절 전이가 없는 환자에서도 면역조직화합법으로 27~46.5%에서 골수에 미소전이된 암세포를 발견할 수 있었다고 보고되고 있으며^{4,7,8)}. 통상의 혈마독실린 애오진(이하 H & E) 염색으로 액와 림프절 전이를 발견하지 못 한 림프절에서 면역조직화학법으로 24%의 림프절에서 미소전이를 확인했다고 한다⁹⁾. 또한 미소전이가 환자의 예후와 유의한 상관성을 가지고 있다는 보고도 있으나 그렇지 않다는 보고도 있다. 액와 림프절이나 골수의 미소전이소를 찾기 위하여 흔히 사용되고 있는 단클론 항체

로는 항-EMA (epithelial membrane antigen) 항체, anticytokeratin, 항-HMFG(human milk fat globule)-1,2 항체 등이 있다.

본 연구는 근치수술 후 장기간 추적조사가 시행된 42명의 제 2 병기 유방암 환자의 림프절에 면역조직화학적 방법으로 염색하여 가장 적절한 염색법을 찾아내고 그 염색법을 이용하여 미소 전이의 발견에 초점을 두었으며 기존에 알려져 있는 예후인자와 더불어 면역조직화학 검사가 예후인자로서도 가치가 있는지의 여부를 검증해보고자 했다.

재료 및 방법

1) 재료

1985년 1월부터 1990년 12월까지 6년간 계명대학교 동산의료원 외과에서 유방암으로 진단 받고 근치적 유방절제술을 시행하여 병리조직학적 검사에서 병기 IIa로 진단된 53예 중 파라핀 블록의 보관 상태가 양호한 42예의 환자의 종양 조직 슬라이드와 액와 림프절 634개를 대상으로 하였다.

2) 방법

(1) **임상기록 재검토**: 연구 대상 환자들의 임상 기록과 병리진단지 등을 재검토하여 성별, 연령, 임상적 병기, 수술 후의 재발 및 전이 여부와 생존 기간을 의무 기록, 전화 접촉 및 왕복서신을 통하여 추적 조사하였다. 추적조사의 완료 시점은 1994년 11월이었다.

(2) **병리조직학적 검색**: 절제된 유방검체를 통상 검색 방법으로 검사하고 특히 종양의 크기, 전이된 액와 림프절의 유무 및 수에 유념하였고 10% 중성 포르말린에 고정 후 통상의 H & E 염색하고 조직학적 등급은 Bloom과 Richardson기준에 준하여 하였다.

(3) **면역조직화학적 검색**: 면역조직화학적 검색을 위해 사용한 1차 항체는 한가지를 제외하고 모두 미국 Novocastra사 제품이며 각각의 종류 및 화석 비율은 각 제품의 사용 지시대로 했다.

우선 림프절 전이가 있는 블록을 10개 골라 Table 1의 1차 항체로 염색을 시행하고 양성을 구한 후 (Table 1) 양성을 가장 높은 EMA 와 PAN-CK 으로 선정한 블록에 대한 염색을 시행하였다.

염색은 미국 Fisher사의 Micro Probe system

—유방암 제2병기 환자에서 림프절 미소전이가 예후에 미치는 영향—

Table 1. Preliminary immunohistochemical studies for metastatic

Sample	HMFG-1	HMFG-2	EMA	Simple CK	CK-5,6,18	PAN-CK	CK-14	Celationase-b*
1	-	-	+	-	-	-	-	-
2	++	++	++	+	-	++	-	-
3	+	-	+	++	-	++	-	-
4	++	+	++	++	-	++	-	-
5	++	+	++	++	+/-	++	+	-
6	++	++	++	++	+/-	++	-	+/-
7	-	-	++	++	-	++	-	-
8	-	-	+	++	-	++	-	-
9	-	-	+/-	+	-	++	-	-
10	+	-	++	++	-	++	-	-

*gelationase-b(일명 92 kD-collagenase antibody)는 고신 의대 약리학 교실 강구일 교수로부터 기증받았음.

Table 2. Clinical data of the 42 patients with stage IIa breast cancer

Variable	Minimum	Maximum	Mean \pm SD
Age(yr)	27	75	46.5 \pm 11.7
Tumor size(cm)	1.0	5.0	3.4 \pm 1.4
Dissected LN number	6	25	15.1 \pm 4.8
Observed survival duration(Mo)	6.3	114.3	59.9 \pm 34.0
Observed disease free duration(Mo)	1.3	97.0	44.5 \pm 11.7

을 이용하였으며 염색 방법은 다음과 같다. 먼저 파라핀 블록을 4 μ m 두께로 절편하여 ProbeOn 슬라이드(미, Fisher사)에 부착시켜 60°C에서 1시간 incubation시켰다. Dewaxing agent로 60°C에서 1분간 3회 및 상온에서 1분간 1회 탈 파라핀을 한 후 auto alcohol에서 4회 및 중류수에 4회를 거쳐 험수시켰다. 40°C에서 2분간 autoblocker로 내인성 펴우시다제를 차단시키기고 IX immunobuffer로 수세를 하였다. 다음에는 조직의 항원성을 높이고 항체의 침투가 잘되게 하기 위해서 autoprep으로 40°C에서 1분간 처리하고 immunobuffer로 수세를 하였다. 비특이적 반응을 방지하기 위해서 protein blocker를 40°C에서 2분간 처리하고 1차 항체(Table 1)를 상온에서 30분간 반응시켰다. immunobuffer로 수세를 한 후 universal 2차 항체로 40°C에서 4분간 반응시켰다. 다시 immunobuffer로 수세를 한 후 strep-HRP detection system으로 40°C에서 4분간 반응을 시켰으며 수세 후 probe lock으로 더 이상의 반

응을 중지시켰다. 그리고 stable DAB로 40°C에서 5분간 발색을 시키고 autowash로 수세를 하였다. Autohematoxilin으로 30초간 대조 염색을 행한 후 중류수로 수세를 하고 universal mount로 봉입을 행하였다. 현미경 관찰 하에 여러 개의 림프절 가운데 한 개의 림프절에라도 염색이 되었다면 양성으로 판독했다.

통계처리는 PC용 통계 패키지 SPSS release 5.0 을 이용했다. 두 그룹간의 차이에 대한 단순 분석시 chi-square법을 이용하였다. 생명표법을 이용하여 생존율 및 무병 생존율을 구했으며 두 그룹간의 통계학적 의미는 Wilcoxon test(Gehan's method)로 검정하였다.

결 과

환자의 연령은 27세부터 75세까지였으며 평균 연령은 46.5세였다. 종양의 크기는 1.0 cm에서 5.0 cm

Table 3. Clinical and pathologic data of 42 patients with stage IIa breast cancer

Variable	No. of Patients(%)
Axillary lymph node by H & E stain	
LN positive	11(26.2)
LN negative	31(73.8)
Histologic grade	
Grade I	12(42.9)
Grade II	13(46.4)
Grade III	3(10.7)
PAN-CK stain	
Positive	8(19.0)
Negative	34(81.0)
EMA stain	
Positive	10(23.8)
Negative	32(76.2)
Survival	
Survived	38(90.5)
Died	4(9.5)
Disease recurrence	
Not recurred	33(78.6)
Recurred	9(21.4)

사이였으며 평균 3.4 cm였다. 박리된 림프절의 수는 최소 6개에서 최대 25개 였으며 평균 15.1개 였다. 관찰된 생존 기간은 최단 6.3개월에서 최장 114.3개월이었으며 평균 59.9개월이었다. 무병 생존 기간은 최단 1.3개월에서 최장 97.0개월로 평균 44.5개월이었다 (Table 2).

H & E 염색상 림프절 전이 양성 11예(26.2%), 음성 31예(73.8%)였다. 조직학적 등급상 grade I 12 예, grade II 13예(46.4%), grade III 3예(10.7%)였다. 면역조직화학 검사상에서는 PAN-CK 양성 8예(19.0%), 음성 34예(81.0%) 였으며 EMA 양성 10예(23.8%) 음성 32예(76.2%)였다. 조사기간 중 4예(9.5%) 사망하였고 9예(21.4%)에서 재발하였다 (Table 3).

통상적인 H & E 염색상 액와 림프절 전이 음성이었던 환자 31예 중 EMA 양성은 2예(6.5%)였고 PAN-CK 양성 1예(3.2%)였다. 이 중 1예는 양쪽 다

Table 4. The result of H&E stain versus immunohistochemical stain

	EMA		PAN-CK	
	Positive	Negative	Positive	Negative
H & E stain				
Negative	2(6.5)	29(93.5)	1(3.2)	30(96.8)
Positive	8(72.7)	3(27.3)	7(63.6)	4(36.4)

Table 5. Result between histologic grade and immunohistochemical staining

Histologic grade	EMA		PAN-CK	
	Positive	Negative	Positive	Negative
I	4	8	3	9
II	2	11	2	11
III	2	1	1	2

p value* 0.1854 0.7314

*chi square test

양성이었다. 면역조직화학 검사상 전이 양성 반응을 보였던 3예(7.1%)의 H & E 염색 슬라이드를 다시 검사해 본 결과 아주 미약하지만 림프절 전이를 관찰 할 수 있었다. 반면 H & E 염색 검사에서 전이 양성이었던 11예중 EMA 음성 3예(27.3%) PAN-CK 음성 4예(36.4%)로 전이된 림프절에 모두 염색되는 것은 아니었다(Table 4).

31예 중 면역조직화학 검사로 2예(6.5%)의 전이를 추가로 확인 할 수 있었다. 2예중 1예는 무병 생존 기간이 4년 7개월이었으며 마지막 관찰 시점까지 살아 있었으나 1예는 4년 10개월만에 국소재발이 일어났고 마지막 관찰 시점까지 7년 1개월간 생존해 있었다.

1) 조직학적 분화도와 면역조직화학염색과의 상관 관계

유방암 원발종양의 조직표본을 관찰하여 Bloom-Richardson 기준에 준하여 조직분화도를 다시 결정하였고, 이를 EMA와 Pan-CK 염색 결과와 비교해 본 결과 Table 6에서 보이는 바와 같이 상관성은 없는 것으로 나왔다(Table 5, p value EMA 0.185, Pan-CK 0.7314).

—유방암 제2병기 환자에서 램프절 미소전이가 예후에 미치는 영향—

Fig. 1. Note several pan-cytokeratin positive micrometastatic tumor cell nests in original negative lymph node. $\times 200$

Fig. 2. Note pan-cytokeratin positive two tumor cells in original negative lymph node. $\times 400$

Table 6. The survival rate according to the various factors*

	5 yr [†] SR(%)	p value**	5 yr [†] DFS(%)	p value**
Overall	86.7		66.3	
Age				
< 40	88.9	0.97	69.2	0.32
≥ 40	85.9		64.5	
Tumor				
< 2 cm	85.7	0.80	56.4	0.72
≥ 2 cm	87.0		69.1	
Lymph nodes				
Positive	92.4	0.36	75.5	0.05
Negative	68.1		42.3	
EMA or PAN CK				
Negative	92.4	0.36	77.1	0.17
Positive	68.1		37.6	

*The cumulative survival rates are obtained by life table method

**The statistics are obtained by Wilcoxon test(Gehan's method)

[†] Survival rate

[‡] Disease free survival rate

2) 생존율

42명 중 관찰 기간 내에 4명이 사망하였고 9명에서 재발하였다(Table 6).

전체적인 5년 생존율은 86.7%였으며 5년 무병 생존율은 66.4%였다. 40세 이하와 40세 이상 환자의 5년 생존율은 그림 3에 보이는 것과 같이 각각 88.9%, 85.9%였으며($p=0.97$), 5년 무병 생존율은 각각 69.2%, 64.5%였다($p=0.32$). 종양의 크기가 2.0 cm 이하인 경우와 2.0 cm 이상인 환자의 5년 생존율은 각각 85.7%, 87.0%($p=0.80$)였으며 무병 생존율은 각각 56.4%, 69.2%($p=0.72$)였다. 림프절 전이 음성인 환자와 양성인 환자의 5년 생존율은 각각 92.4%, 68.1%($p=0.36$)였으며 무병 생존율은 각각 75.5%, 42.3%($p=0.05$)였다. EMA 혹은 PAN-CK 염색 음성인 경우와 양성인 경우의 5년 생존율은 각각 92.3%, 68.1%($p=0.36$). 5년 무병 생존율은 각각 77.1%, 37.6%($p=0.17$)였다.

이상의 결과에서 42명의 병기 IIa 유방암환자의 5년 생존율 및 5년 무병생존율은 나이(40세기준), 종양의 크기(2.0 cm 기준), 림프절 전이유무 및 림프절의

면역조직화학염색 유무에 따라서 생존율은 통계학적으로(유의수준 $p=0.05$) 의미있는 예후인자로 나타나지는 않았다. 그러나 이 중 H & E 염색상 림프절 전이 유무가 생존율에 영향을 가장 많이 미치는 것으로 나타났고 면역조직화학 검사는 림프절 전이 유무를 알아보는 보조수단으로 이용하는 것이 바람직하리라 생각된다.

고 찰

병기에 따라 차이가 있는 하지만 유방암은 다른 암에 비해 비교적 양호한 예후를 나타내는 편이다. 우리나라에서 최근 보고된 결과에 의하면 전체적인 5년 생존율이 65.1%~81.6%, 10년 생존율이 51.9%~67.6%, 병기 2기의 경우 76.3~89.3%로 나와 있다^[10~14]. 우리나라의 경우 외국에 비해 병기 I, II의 조기암의 빈도가 적었으나 최근에 와서는 환자나 의사의 관심도가 높아져서 조기암의 빈도가 증가하고 있는 실정이다. 임상적으로 예후 인자가 필요한 이유는 첫째 술 후 부가적인 치료가 요하는 환자인지를 평가하고 둘째는 예후가 좋지 않으리라 예측되는 환자의 부가적인

치료의 강도를 높이는 데 필요하며 가장 중요한 것은 술 후 부가적인 치료가 환자에게 도움이 될지는 해가 될론지 가늠해보는 기준이 되는 것이다^[15].

조기암에서 즉 액와림프절 전이가 없는 경우의 예후 인자에 관해서 분자 생물학적 접근, 면역화학적 접근 등으로 많은 연구가 진행되어 연구소마다 나름대로의 결과를 보고하고 있다. 그 중 세포의 증식능력을 평가하는 mitotic index, thymidine labelling index, flow cytometry에 의한 S 분획 측정 등으로 그 예후인자로서 가치를 보고하고 있다^[16,17]. 그 외 증식세포의 핵항원에 대한 단 클론 항체로서 Ki67 및 PCNA 측정치가 예후인자로서의 관련성이 보고되기도 한다^[18].

호르몬 수용체로서 ER/PR, pS2, HSP(heat shock protein)등, 성장인자 혹은 그 수용체로서 EGFR, HER-2/neu, p53, nm23 등의 유전자 발현 여부가 예후와 상관성이 있는 것으로 보고되기도 하나 일관성이 있지는 않다고 알려져 있다^[19].

기존의 H & E 염색법에 의한 액와림프절 전이가 발견되지 않는 경우 미세전이를 찾아 낼 수 있다면 이것은 위에 열거한 여러 가지 분자생물학적 접근에 의한 예후 인자보다 임상적으로 매우 가치 있는 것이다. 림프절을 이용한다면 림프절 전체를 1mm 간격으로 연속 분절 관찰법(serial macroscopic sectioning)에 의해 림프절 전역을 고루 검사하는 방법과 몇 개의 절편에 암세포에 대한 단클론 항체를 부착염색하는 면역 조직학적 방법을 들 수 있다. 연속 분절관찰법으로 림프절 전이 음성이었던 환자중 7%에서 미세전이를 관찰할 수 있었으며 염상암에서 그 탐색률이 높은 것으로 관찰된 보고도 있다^[20].

면역 조직학적 방법으로 사용되는 단클론 항체로는 anti-cytokeratin과 anti EMA가 가장 많이 이용되고 있으나 anti-cytokeratin이 교차반응이 적어서 특이성이 높다고 알려져 있다^[21]. Cytokeratin은 세포막의 intermediate filament로서 세포의 골격을 이루는 중요한 물질로서 각 상피세포에 따라 분자량은 특성에 차이가 있다. 원발암 세포 뿐 아니라 전이암세포에서도 intermediate filament의 원형은 그 대로 보존되므로 특이성에 관한 한 anticytokeratin 항체를 사용하면 암세포 고유항체를 썼을 때 볼 수 있는 이질성 문제를 극복할 수 있다. EMA(epithelial membrane antigen)은 세포막에 있는 큰 분자의 당

단백이다. 여기에 대한 항체를 부착하여 비 상피세포인 림프절내에 있는 상피세포를 발견함으로써 미소전이를 발견하는 것이다.

본 연구에서는 조사대상 634개의 림프선 중 14개는 H & E 염색상 양성을 보여 주었다. 10개의 림프절전이 양성 조직표본을 대상으로 표본 면역조직화학 검사에서 EMA 와 PAN-Cytokeratin의 염색 발현율이 가장 높게 나타났다. Gelatinase-b는 암이 전파되는 최선단의 세포에서 잘 발현되는 것으로 실험되었다는 고신의대와 개인적인 정보를 가지고 함께 실험을 했으나 10개의 샘플 중 1개에서 약간의 양성반응을 보였을 뿐 나머지는 모두 음성이어서 전체 염색에서 제외되었다. Anti-cytokeratin이나 anti-EMA는 종양자체에 발현율은 거의 100%로 발현되는 것으로 되어있으며 cytokeratin 단클론 항체 가운데 유방암 조직에서는 AE1, RPN1162, RPN1165의 발현율이 가장 높은 것으로 보고되어 있다^[22]. Anti-EMA와 anti-keratin의 면역화학 검사로 미소전이 발견율 조사에서 전체적인 발현율 15%, 염상세포암의 경우 33 %정도에서 양성 발현을 하는 것으로 보고 되어있다^[23]. Anti-EMA 검사에서 대식세포가 영향을 미쳐 위양성이 나올 수도 있다는 점을 유의해야한다는 보고도 있다^[24].

본 연구에서는 림프절 전이가 확인된 11예 중 anti-EMA에 8예(72.7%), pan-CK에 7예(63.6%) 염색 되었다. 보통의 염색으로 전이가 없는 것으로 판독했던 31예중 2예는 anti-EMA에 양성, 1예는 PAN-CK에 양성으로 나왔다. 이 중 1예는 양쪽 모두 양성이기에 전체 31예중 2예의 환자(6.5%)에서 미소전이를 새롭게 확인한 셈이다. 본 연구에서 조직 절편을 만들 때에 통상의 검사 때와 마찬가지로 4 μm 두께로 잘랐는데 만약 10~15 μm 두께로 잘랐더라면 양성율이 더 높게 나왔을는지도 모를 일이다. 보고에 의하면 침윤성 염상 세포암이 침윤성 관상피암보다 높게 발현되는 것으로 되어 있으며 Anti-EMA 검사로 침윤성 염상암의 림프선 전이 음성이었던 50예중 12 예(24%)에서 양성으로 발현된 것으로 보고되어 있다^[25].

과거에 수술한 예를 대상으로 할 때는 파라핀 침윤된 림프절을 재료로 하여 대상을 늘려 잡기에 좋은 점이 있으나 그 발현율이 대체로 골수천자검사보다 낮은 단점이 있다. 액와 림프선 전이가 없는 환자의 골수천

자검사로 46.5%에서 EMA 양성발현을 관찰했고 양성환자의 21%에서, 음성환자의 5.7%에서 20개월 추적검사로 재발을 발견했다는 보고도 있다²⁵⁾. 또한 46 예의 골수천자검사에서 19.5% 재발환자중 63.6%에서 미소전이를 발견했고²⁶⁾, 100명의 전이가 없었던 유방암 환자 중 골수세포 검사로 38%에서 anti-EMA와 anti-Cytokeratin검사양성, 평균 34개월 추적검사에서 양성환자의 39%에서 음성환자의 15%에서 재발하였지만 통계학적 의의는 없었다는 보고도 있다²⁷⁾. 전이가 없는 유방암환자의 골수세포에서 EMA양성을은 27%이며 종양의 크기, 종양주위 혈관침범 정도와 연관있다고 하기도 한다⁴⁾. 이와 같이 골수 천자검사로 골수 세포에 anti-EMA 나 anti-cytokeratin항체를 이용한 면역조직화학검사를 시행하여 후향적 조사를 하는 것이 바람직한 결과를 기대할 수 있으리라 생각된다. 최근에는 림프절의 미소전이를 찾는데 RT-PCR(reverse transcriptase-polymerase chain reaction)으로 그 미소전이 검색율을 26%부터 66%까지 상승시켰다는 보고도 있다²⁸⁾.

여러 보고에서 림프절 전이 다음으로 중요한 예후인자로 조직학적 등급을 보고하고 있으나^{29,30,31)} 본 연구에서는 조직학적 등급과 재발 혹은 생존율과의 상관관계는 없는 것으로 조사되었다. 또한 원발종양의 조직학적 등급과 EMA 및 cytokeratin발현과의 관련성은 없는 것으로 조사되었다. 미소전이와 조직학적 분화도는 각각 중요한 예후 인자로 밝혀져 있지만 직접적인 연관성은 다른 문제로 해석해야 할 것이다. 유방암에서는 10%에서 잠재적 미소전이가 있으며 5년 추적조사에서 30%에서 재발하는 것으로 보고하고 있다³²⁾.

결론적으로 생존을 추적조사에서 나이, 종양의 크기, 림프절 전이유무, 액와림프절의 EMA 및 PAN-CK 발현 유무 4가지에 관한 5년 생존율 및 5년 무병생존율은 림프절전이 유무가 가장 의미 있는 것으로 나왔으며($p=0.05$) 나머지는 통계학적으로 의미가 없는 것으로 조사되었다. H & E 염색상 림프절 전이가 없었던 31예중 2예에서 EMA 혹은 PAN-CK 단클론항체를 이용한 면역조직화학 검사에서 림프절 전이를 찾았고 2예중 1예는 무병 생존 기간이 4년 7개월이며 마지막 관찰 시점까지 살아 있었으나 1예는 4년 10개월만에 국소재발이 일어났고 마지막 관찰 시점까지 7년 1개월간 생존해 있다. 림프절 전이 유무가 생존율

에 영향을 가장 많이 미치는 것으로 나타났고 면역조직화학 검사는 림프절 전이 유무를 알아보는 보조수단으로 이용하는 것이 바람직하리라 생각된다.

결 롬

이 연구는 암조직의 미소전이 여부를 찾는 방법로서 단클론 항체인 anti-EMA 와 anti-PAN-CK를 이용하여 유방암의 예후 인자로서 가장 중요하다고 알려져 있는 액와림프절에 발현 정도를 찾아보고 예후인자로서의 가치를 판정해보고자 했다. 42예의 병기 IIa 유방암환자의 파라핀 침투된 634개의 액와림프절을 대상으로 했다. 42예중 31예는 림프선 전이가 없었으며 11예에서 전이가 있었다. 림프선 전이 양성인 11 예 중 8예(72.7%)에서 anti-EMA 단클론 항체로 염색이 되었으며 7예(63.6%)에서 anti-PAN-CK에 염색되었다. 림프절 전이가 없었던 31예중 2예(6.5%)에서 두 가지 면역조직화학검사중 한 가지 혹은 두 가지 모두에 염색되어 미소전이를 확인할 수 있었으며 이중 1예는 4년 10개월만에 재발하였으나 추적기간중 7년 1개월간 생존해 있었다.

추적조사에서(중간 추적기간 59.9개월) 5년 생존율은 나이(40세기준), 종양의 크기(2 cm 기준), 림프선 전이 여부, 면역조직화학적 염색유무 등 4가지 요소중 예후인자로서 가치 있는 것은 없었다. 다만 5년 무병 생존율에 있어서는 림프절 전이가 가장 가치 있는 것으로 조사되었다($p=0.05$). 면역조직화학검사는 단독으로 예후인자로서는 가치가 없었으며 미소전이를 검색하는 보조수단으로 이용하는 것이 가치있는 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) DJ Ferguson, P Meier, T Garrison, PJ Dawson, FH Straus, FE Lowstein: *Staging of breast cancer and survival rates. JAMA* **248**: 1337, 1982
- 2) IC Henderson: *Biologic variations of tumors. Cancer* **69**: 1888, 1992
- 3) G Ellis, M Ferguson, E Yamanaka, RB Livingston, AM Gow: *Monoclonal antibodies for detection of occult carcinoma cells in bone marrow of*

- breast cancer patients. *Cancer* **63**: 2509, 1989
- 4) U Berger, R Bettelheim, JL Mansi, D Easton, RC Coombes, AM Neville: *The relationship between micrometastases in the bone marrow, histopathologic features of the primary tumor in breast cancer and prognosis*. *AJCP* **90**: 1, 1988
- 5) Adjuvant therapy for breast cancer. *JAMA* **254**: 3461 1985
- 6) Consensus development panel. *Consensus treatment: treatment of early-stage breast cancer*. *J Natl Cancer Inst Monogr* **11**: 1 1992
- 7) E Merkle, J Bahr, A Henke, M Buhner, P Martus: *Immunocytochemical detection of tumor cells in bone marrow as a prognostic factor in breast carcinoma*. *Geburtshilfe-Frauenheilkd.* **54**: 662, 1994
- 8) N Harbeck, M Untch, L Pache, W Eiermann: *Tumor cell detection in the bone marrow of breast cancer patients at primary therapy: results of a 3 year median follow-up*. *Br J Cancer* **69**: 556, 1994
- 9) G Bussolati, P Gugliotta, I Morta, F Pietriasi, E Berardengo: *The immunohistochemical detection of lymph node metastases from infiltrating lobular carcinoma of the breast*. *Br J Cancer* **54**: 631, 1986
- 10) 심강섭, 박정수, 민진식, 이경식: 유방암 환자의 치료성 적이 미치는 예후 인자에 관한 연구. *대한 의과학회지* **45**: 716, 1991
- 11) 최국진, 차득호, 조재원, 송영진, 노동영, 김진복: 유방의 병기별 치료성적과 예후에 관련된 인자들. *대한의과학회지* **41**: 410, 1991
- 12) 왕희정, 갈연호, 백인숙, 이혁상: 유암의 임상적 고찰 및 원격 성적. *대한의과학회지* **48**: 429, 1992
- 13) 양정현, 이환효, 이봉화, 우제홍: 유방암의 수술적 치료 후 원격 성적에 영향을 미치는 예후 인자. *대한의과학회지* **45**: 770, 1992
- 14) 전형기, 이충한, 최경현, 이승도, 박영훈: 유방암의 임상적 고찰 및 원격 성적. *대한의과학회지* **48**: 170, 1995
- 15) Clark GM: *Do we really need prognostic factors for breast cancer?* *Breast Cancer Res Treat* 1994, **30**: 117
- 16) Silverstrini R: *Cell kinetics; prognosis and therapeutic implications in human tumors*. *Cell Prolif.* **27**: 579, 1994
- 17) Zambetti M, Bonadonna G, Valagussa P, et al: *Adjuvant CMF for node-negative and estrogen receptor-negative and estrogen receptor-negative breast cancer patients*. *J Natl Cancer Inst Monogr* **11**: 77, 1992
- 18) Winter H-O, Ziffel I, Schulte-Monting J, et al: *Ki-67 immunostaining in human breast tumors and its relationship to prognosis*. *Cancer* **67**: 421, 1991
- 19) Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Hellman S: *Diseases of the Breast (Clark GM: Prognostic and Predictive factors)*. *Lippincott*, 1996, p457-479
- 20) Mascarel I, Bonichon F, Coindre JM, Trojani M: *Prognostic significance of breast cancer axillary lymph node micrometastases assessed by two special techniques: reevaluation with longer follow-up*. *Br J Cancer* **66**: 523, 1992
- 21) Thor A, Viglione MJ, Ohuchi N, Simpson J, Steis R, Cousar J, Jippman M, Kufe DW, Schlom J: *Comparison of monoclonal antibodies for the detection of occult breast carcinoma metastases in bone marrow*. *Breast Cancer Res Treat* **11**: 133, 1988
- 22) Tsubura A, Okada H, Senzaki H, Hatano T, Morii S: *Keratin expression in the normal breast and in breast carcinoma*. *Histopathology* **18**: 517, 1991
- 23) Wells CA, Heryet A, Brochier J, Gatter KC, Mason DY: *The immunocytochemical detection of axillary micrometastases in breast cancer*. *Br J Cancer* **50**: 193, 1984
- 24) Bussolati G, Gugliotta P, Morra IL, Pietribiasi F, Berardengo E: *The immunohistochemical detection of lymph node metastases from infiltrating lobular carcinoma of the breast*. *Br J Cancer* **54**: 631, 1986
- 25) Merkle E, Bahr J, Henke A, Buhner M, Martus P: *Immunocytochemical detection of tumor cells in bone marrow as a prognostic factor in breast carcinoma*. *Geburtshilfe-Frauenheilkd.* **54**: 662, 1994
- 26) Basu D, Singh T, Shingha RN: *Micrometastasis in bone marrow in breast cancer*. *Indian J Pathol Microbiol* **37**: 159, 1994
- 27) Habeck N, Untch M, Pache L, Eiermann W: *Tumor cell detection in the bone marrow of breast cancer patients at primary therapy; results of a 3 year median follow*. *Br J Cancer* **69**: 566, 1994

- 28) Mork M, M Koshi, Inoue H, Barnard GF, Tsuji K, Nanbara S, Ueo H, Akiyoshi T: *Detection of cancer micrometastases in lymph nodes by reverse transcriptase-polymerase chain reaction.* *Cancer Research* **55:** 3417, 1995
- 29) Rank F, Dombernowsky P, Jespersen NC et al: *Histologic malignancy grading of invasive ductal breast carcinoma; A regression analysis of prognostic factors in low-risk carcinomas from multi-center trial.* *Cancer* **60:** 1299, 1987
- 30) Elston CW, Ellis IO: *Pathological prognostic factors in breast cancer. The value of histological grade in breast cancer.* *Histopathology* **19:** 403, 1991
- 31) Schumacher M, Schmoor C, Sauerbrei W et al: *The prognostic effect of histological tumor grade in node-negative breast cancer patients.* *Breast Cancer Res Treat* **25:** 235, 1993
- 32) 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:** 409, 1987