

주사형 전자현미경에 의한 위암의 형태학적 관찰

경북대학교 의과대학 병리학교실

손 경 락 · 광 정 식 · 손 태 증

서 론

주사형 전자현미경(scanning electron microscope, 이하 SEM으로 표기)은 1937년에 고안되어 1960년대 후반에 의학 생물학 분야에 응용되기 시작하여 그간 혈구¹⁻³⁾를 위시한 각종 정상 및 병적세포의 표면구조를 주로 관찰하였다. 그러나 최근에 고정법, 탈수법 및 도전법 등이 개선되고 여기에 더하여 세포내부의 구조물 예를 들면 mitochondria, ER(endoplasmic reticulum), Golgi 장치, lysosome 등의 표면구조를 볼 수 있는 방법이 고안되고⁴⁻⁷⁾ 또한 SEM 자체의 분해능이 상승됨에 따라 그 응용분야는 더욱 확대되어 각종 질병의 진단에도 이용할 단계에 있다.

SEM으로 병적세포를 관찰한 가운데 위암에 있어서는 1974년 Takagi 등⁸⁾에 의한 것이 처음인데, 이들은 위암을 비롯하여 만성 위축성 위염, 케양주변의 재생상피, 장화생 상피, 위용종등을 관찰하였다. 그 밖에 위점막을 SEM으로 관찰한 연구는 Pfeiffer^{9,10)}, Fallah¹¹⁾, Tode¹²⁾, Riddle¹³⁾, 및 Harding 등^{14,15)}이 있으나 아직도 이 방면에는 거의 알려져 있지 않다. 또 최근 위암에 있어서는 위암의 조직발생과 이와 병행하는 위암의 분류법이 많은 사람들의 관심을 끌고 있으나 아직도 규명되지 않고 있으며, 이에 대한 SEM의 연구 보고는 거의 없다.

그리하여 저자는 우선 광학현미경 및 투과형 전자현미경에서 분화암과 미분화암이 SEM으로 어떻게 차이가 있는가를 알아보기 위하여 이 연구를 계획하였다.

재료 및 방법

실험 재료는 위내시경 생검으로 위선암이 확진된 11예에서 위절제술 즉시 채취한 표본을 대상으로 하였으

며, 시료 제작방법은 Table 1과 같다.

먼저 위점막의 점액을 제거하기 위하여 0.2×3×4 cm 가량의 위점막 block을 채취, 유문동, 유문 및 종양 부위로부터 각각 채취하여 0.9% 생리식염수에 약 3분간 흔들어서 대부분의 점액을 제거하고, 남은 점액을 충분히 제거하기 위하여 block을 다시 여과지에 잠시 부착시켰다가 제거함으로써 점액을 제거함과 동시에 시료가 수축되는 것을 방지하였다. 점액이 제거된 시료는 2.5% glutaraldehyde 용액(1/15 M, phosphate buffer, pH 7.4)에 전고정하고 약 10분후에 다시 1×2×3 mm 정도 크기로 세절하여 SEM 시료로 사용하였고 일부는 1mm³ 정도로 더욱 세절하여 투과형 전자현미경용 시료로 사용하였다. 시료를 채취하고 남은 위조직은 10% 중성 포르말린에 고정하여 광학현미경용 시료로 사용하였다. SEM용 시료는 2.5% glutaraldehyde 용액에 2시간 전고정하고, conductive staining^{16,17)}—1% OsO₄(1/15 M, phosphate buffer, pH 7.4)에 1시간 고정후 2% tannic acid에서 overnight 시킨후 다시 1% OsO₄에 고정하는 방법 즉 modified Tanaka method—을 시행하였다. Conductive staining이 끝난 시료는 계열 에칠알콜로 탈수하였고 isoamyl acetate로 침투시킨 후 Hitachi HCP-2형 임계점 건조기(critical point dryer)로서 액체 이산화탄소를 사용하여 임계점 건조하고, 알루미늄 stub에 mounting 후 Eiko 1B-2형 ion coater로 gold-palladium으로 sputtering 증착을 한 후 Hitachi S-520형 SEM, 가속 전압 20 KV로 관찰하였다. 투과형 전자현미경용 시료는 2.5% glutaraldehyde(0.1 M, phosphate buffer, pH 7.4)용액에 후고정하고, 탈수는 계열 에칠알콜로 하여 propylene oxide로 침투시킨후 Luft 방법¹⁸⁾에 의해 epoxy resin으로 포매하여 Porter-Blum MT-2 B형 ultramicrotome을 사용하여 400~600 Å으로 초박 절한 후 Reynolds 법¹⁹⁾으로 전자 이중염색을 하여 Hitachi H-600 전자현미경으로 관찰하였다.

접 수 : 1985년 3월 2일

Table 1. SEM specimen preparation technique

Sequence	Solution or instrument	Duration	Temp.
Prefixation	2.5% Glutaraldehyde (1/15 M, phosphate buffer, pH 7.4)	2~3 hr	RT*
Washing**	1/15 M phosphate buffer	1 hr(2 changes)	RT
Conductive staining	1% OsO ₄ and washing (1/15 M, phosphate buffer, pH 7.4)	1 hr	RT
	2% Tannic acid and frequent washing	2~3 hr or overnight	RT
	1% OsO ₄ and washing	1 hr	RT
Dehydration	Ascending grade of ethanol (50%, 70%, 80%, 95%, 100%)	30 min/each	RT
Penetration	Isoamyl acetate	10 min	RT
Critical point drying(CPD)	Liquid CO ₂ (95~100kgf/cm ²)	20 min	RT
Mounting	Silvester	—	RT
Coating	Gold-Palladium (Sputtering)	2.5 min in 7 mA	
Observation	Hitachi HCP-2 SEM		

*: Room temperature

** : Washing with 1/15 M phosphate buffer at pH 7.4

성 적

광학현미경적 소견 : 실험재료로 사용한 인체 위암 조직표본은 모두 계양성 위암이었고, 위암을 분화암과 미분화암으로 구분할 때 분화암은 7예, 미분화암은 4예로 나타났다.

분화암의 경우 1예를 제외하고는 모두 gland의 모양이 유지되어 있으며 그 정도에 따라 gland가 잘 유지된 부분에서부터 변형이 심한 부분까지 다양하게 나타났다. 남은 1예의 경우 병변의 대부분은 gland형성이 잘 되어 있지만 점막의 최상층은 미분화암 형태를 취하며, 표면은 편평하고 부위에 따라서는 육아조직이 표면에 노출되어 있었다. 그러나 전반적인 세포의 다형태성(pleomorphism)은 심하지 않은 정도이다. 분화암의 대부분의 경우 점막의 표면은 잘 분화된 암실수독 소낭선(crypt)을 잘 형성하면서 굴곡이 심하고(Fig. 1), 분화도가 낮을수록 소낭선이 얇아지거나 없어지고 표면의 굴곡이 대체로 완만해지는 경향이었다. 장화생은 1예를 제외하고는 주로 병변주위로 광범위하게 나타났으며, 군데군데 흩어져 나타나는 예도 있었다. 그러나 장화생세포에서 암세포로 이행하는 부분은 없었다. 미분화암의 경우 1예는 signet-ring 세포로 구성되어 있으며, 나머지 3예는 다형태성이 심한 세포나 mucocellular 세포로 구성되어 있었다. 병변은 대부분 표면에 노출되어 있으며, 미란(erosion)의 정도와 세포

탈락의 정도에 따라 다르지만 굴곡이 완만하였고(Fig. 6), 1예의 signet-ring 세포암인 경우 병변이 점막의 군데군데 흩어져 있으면서 병변이 정상점막에 의해 덮혀 있거나 표면에 노출이 되어 정상점막과 병변이 번갈아 가며 나오는 부분도 볼 수 있다. 장화생은 병변 주위에 부분적으로 나타났고 그 정도는 분화암에 비해서는 매우 미약한 정도이며 1예의 경우 enterocolic metaplasia도 관찰할 수 있었다. 그러나 장화생 세포에서 이행하는 병변부위는 없었고, 1예의 경우는 장화생을 볼 수 없었다.

투과형 전자현미경적 소견 : 분화암의 경우 세포의 다형태성이 다양하게 나타나고 세포와 세포사이의 경계가 불규칙하며 입방형이나 원주상과 모양이다. 세포간 결합(intercellular junction)은 잘 발달되어 있다. 핵막은 경계가 불규칙하고 핵인이 뚜렷하며 염색질이 농염되어 있으면서 불규칙하게 분포하고 있다. RER은 핵주위로 발달이 되어 있으며 SER은 발달되어 있지 않다. Golgi complex는 세포의 침부에 위치하며 그 주위로 여러가지 크기의 분비과립이 산재해 있는 것을 볼 수 있다. 그러나 정상 점막 상피세포의 분비과립에 비해서는 발달이 저조하며 내부의 밀도(density)도 다양하다. 세포의 자유면은 수많은 미용모로 덮여 있으며 그 모양과 배열은 소장외 미용모와 유사하다(Fig. 1). 미분화암의 경우 세포는 대개 원형, 입방형, 원주형, 다각형등의 다양한 형태를 취하고 있으며 핵막은 불규칙하고 핵인을 갖고 있다. 세포질 내에는 분비과

Table 2. Differentiation between differentiated and undifferentiated carcinoma of the stomach by SEM

	Differentiated	Undifferentiated
Fold		
Development	Variable but present	Poor
Arrangement	Irregular Fusion of fold	Irregular and scattered
Size	Usually large	Small
Furrow	Deep and wide	Shallow
Tumor cell		
Shape	Polygonal	Round to polygonal
Anisocytosis	Slight to moderate	Severe
Microvilli	Well developed Pleomorphic	Poorly developed Pleomorphic
Hemispheric colliculi	Well developed	Poorly developed
Cohesiveness	Good	Poor
Intestinal metaplasia	Moderate to severe	Mild, only focally

립이 산재해 있으며 그 수와 밀도는 다양하였다. 세포 소기관들은 뚜렷한 변화가 관찰되지 않았으며 세포의 자유면은 미용모가 덮여 있다(Fig. 6).

주사형 전자현미경적 소견 : 위점막의 체부, 유문동, 유문 및 위선암 부위에서 채취한 조직을 1% OsO₄-2% tannic acid-1% OsO₄(OTaO)법으로 전도성 염색을 한 후 gold-palladium으로 sputtering 증착하여 조직의 표면을 관찰하였을 때 위점막의 부위별, 선암의 존재유무와 분화 정도에 따른 3차원적인 구조의 이상을 관찰할 수 있었다.

체부 위점막 표면은 많은 fold로 구성되어 있으며 각 fold는 주위의 다른 fold와 서로 연결되어 뇌의 회선과 같은 모양을 하고 있고, 각 fold사이의 furrow는 얇다. 각 fold의 표면에는 수개의 함몰된 위소와 (gastric pit)를 볼 수 있으며 점액성 분비물로 채워져 있다. 표면 상피세포는 대개 다각형이고, 크기가 일정하며 내강으로 돌출되어 있으며, 짧고 규칙적인 미용모가 세포의 전 표면을 고루 덮고 있고, 부분적으로 미용모가 없는 장화생 세포를 관찰할 수 있었다. 장화생 세포는 개개의 세포로 떨어져 있거나 또는 수개의 세포가 군데군데 모여 있어서 모자이크 형태를 보이고 표면의 미용모는 소실되어 있거나 세포의 변연을 따라 일부 남아 있는 경우도 관찰되었다. 부위에 따라서는 미용모가 없어지면서 hemispheric colliculi^{*)}—상피세포의 첨단부의 분비과립이 밀집되어 내강쪽의 세포막을 밀어서 돌출된 부위—가 많이 관찰되었으며 hemispheric colliculi가 많을수록 미용모는 감소되는 경

향이였다. 유문동과 유문부는 체부에 비해 furrow가 더욱 저명하여 넓고 깊으며, 이같은 소견은 유문부로 갈수록 더욱 저명하게 나타났다. 상피세포의 크기, 모양 및 배열은 체부와 유사하나 장화생, 세포박탈 및 변성은 체부에 비해 더욱 뚜렷이 관찰되었으며, 장화생이 심한 부위는 표면에 미용모가 없는 세포와 있는 세포가 번갈아 가며 존재하므로 모자이크 형태가 더욱 뚜렷하였다. 특히 유문동 부위의 상피세포에는 hemispheric colliculi가 잘 발달되어 있으며 주로 세포의 중심부에 위치하고 변연을 따라 미용모가 남아 있는 것을 관찰할 수 있으며, 일부 미용모는 작은 수포를 형성하고 있다.

위선암의 경우는 상기한 소견들이 좀더 다양하고 불규칙하게 나타났다. 분화암의 경우 fold의 형성은 주변 점막과 유사하나 fold의 크기나 배열이 좀더 불규칙하고, fold가 서로 융합하거나 다리(bridge)로 연결이 되어 있고 furrow가 넓고 깊다(Fig. 2). 표층세포들은 위소화를 중심으로 치밀하게 배열되어 있으며, 위소와는 세포 부스러기와 점액으로 채워져 있다. 개개의 세포는 분화도에 따라 크기와 모양이 다양하고 서로 융합이 되기도 하고, 세포간 groove는 매우 얇아져서 편평하게 되는 경향이였다(Fig. 3). 세포의 표면은 미용모로 덮여있는 경우가 많지만 그 분포와 모양에서 아주 다양하게 나타났다. 부위에 따라 짧고 규칙적인 미용모가 세포 표면을 고르게 덮고 있는 부분이 있는가 하면 완전히 소실된 부위도 있고, 부분적인 소실이 있는 경우는 주로 세포의 중심부에 소실되었다.

또한 특기할 만한 사실은 다형태성 미용모(pleomorphic microvilli)가 다수 관찰된다는 점으로(Fig. 4), 그 모양이나 수 그리고 분포가 매우 다양하였으며 평균 0.6 μm , 최고 2.7 μm 까지의 다양한 크기로 나타났다. Hemispheric colliculi도 그 분포가 흔히 관찰되었다(Fig. 5). 미분화형 위선암의 경우 fold나 furrow의 발달이 불완전하거나 거의 형성이 되지 않으며, 다형태성이 더욱 뚜렷하다(Fig. 7). 세포의 표면은 미용모가 없이 편평한 세포에서부터 다형태성 미용모가 많이 나타나는 세포까지 다양하게 나타났으며, 짧고 규칙적인 미용모로 덮힌 세포는 소수이고 대개는 다형태성 미용모로 덮여있거나(Fig. 8), 세포 중심부는 미용모가 소실되고 변연을 따라 미용모가 남아있는 세포로 구성되어 있다(Fig. 9). 다형태성 미용모의 크기는 평균 1.2 μm 이며, 가장 큰 것은 2.3 μm 정도로 나타났다. 세포의 응집력은 더욱 떨어져 주위 암세포로부터 분리되어 내강 쪽으로 발달되는 세포가 많다. Hemispheric colliculi는 분화암에 비해 발달이 저조하였다. 장화생은 4예중 3예에서 관찰할 수 있었으며, 위선암의 주변에서 부분적으로 관찰할 수 있었고, 각각의 장화생 세포는 주변의 표면 상피세포와 치밀하게 연결되어 있으며 여기저기 흩어져 있고 표면은 미용모가 소실되어 편평하고 세포의 변연을 따라 일부 미용모가 남아있고 주변 표면 상피세포보다는 내강 쪽으로 돌출되어 있다(Fig. 10).

상기한 분화암과 미분화암의 주사형 전자현미경적 소견을 요약하면 Table 2.와 같다.

고 찰

위암은 우리나라 악성종양의 빈도로 보아 남녀 공히 수위를 차지하며, 암으로 인한 사망에 큰 몫을 차지하고 있다. 그러나 아직 우리나라와 일본을 위시한 아시아 영역은 계속 증가추세에 있으며 이에 반해 구미 지역은 계속 감소하는 추세이다. 위암의 원인은 다른 종양과 마찬가지로 규명된 바는 없지만 아마도 환경적인 요소가 위암을 유발하는 원인일 것으로 대다수의 학자들은 생각하고 있으며, 이외에도 전암상태 즉 만성 위축성 위염, 위용종 또는 위선종, Menetrier씨 병, 악성빈혈등에서 위암 발생율이 더 높다고 한다²⁰. 상기한 전암상태의 공통적인 소견은 장화생과 이형성(dysplasia)으로서 Haenszel 등²¹은 "restless soil"로 표현했으며 암으로 변하기 쉬운 상태라고 했다. 더우기 많은 위암이 소장에서 볼 수 있는 세포로 구성되어 있음

은 아마도 장화생이 위암의 중요한 유발인이거나 그 전구로서 생각하는 경향이 있다^{22~25}.

장화생이 위암발생에 관계한다는 사실은 여러 학자들에 의해 보고된 바 있다. Lauren²⁶은 위암을 intestinal형과 diffuse형으로 분류하여 전자는 분화암에 속하고 후자는 미분화암의 범주에 속하는 것으로 해석했으며 intestinal형은 거의 항상 장화생 세포에서 유래하며, diffuse형은 정상 점액세포에서 유래한다고 했다. Lauren의 연구는 종래의 형태학적인 위암분류에서 벗어나서 조직발생학적인 관점에서 분류했으며, 장화생이 분화암의 발생과 관계지었다는 점에서 의의가 있다고 생각된다. 이후 Ming 등²⁷은 60예의 위암과 86예의 양성 위질환을 광학현미경 및 전자현미경으로 관찰하였으며 분화암의 경우 전자현미경상 뚜렷한 striated border를 가지며 세포질내에는 분비과립이 나타나며 그 밀도는 다양하다고 했으며, 미분화암 1예의 경우 세포막은 편평하며 미용모와 분비과립이 전혀 관찰되지 않았으나 그 외에는 어느정도 분비과립이 존재하였다고 했다. 이 같은 소견들은 장화생 세포와 유사한 소견으로 표면에 striated border나 분비과립의 소실은 장화생이 잘 발달된 부분에서 관찰되는 소견으로 보아 결론적으로 암세포는 일면 장화생 세포의 특징을 지니고 있다고 했다. 또한 Järvi와 Nevalainen²⁸은 intestinal형과 diffuse형의 미세구조에 대해 기술하고, intestinal형의 경우 미용모가 대체로 규칙적인 brush border를 형성하고 길이는 1 μm 정도로 위의 장화생 세포나 소장의 상피세포에서 볼 수 있는 미용모와 유사한 점이 있으며 일부 미용모는 비정상적으로 길거나 변형되어 있다고 했다. 분비과립은 대개 작고 둥근며 밀도가 균일하며 세포의 침부나 Golgi complex 부근에 나타났다고 했다. Diffuse형은 미용모가 불규칙하고 분비과립 또한 그 수가 다양하며 망상의 구조를 하여 goblet 세포와 유사한 형태를 나타냈다고 했다. 이와같이 미용모의 발달은 intestinal형에서 흔히 관찰되는 소견이며, Järvi와 Lauren²⁹이 이야기한 장화생은 종양조직 그 자체에서 생길 수 있으며 또한 종양은 장화생에서 유래한다는 설에 대해서는 아직 단언하기는 어렵지만 다른 조직학적 및 조직화학적 응용^{24, 26, 29}에 의한 결과를 고려한다면 위암이 장화생에서 유래할 것으로 결론지었다. 그러나 diffuse형의 위암에서 부분적으로 gland를 형성하는 분화한 부분이 있을 수 있고, brush border도 때때로 관찰할 수 있으므로 아직 위암의 조직발생에 관해서는 아직 확실하게 규명이 되어 있지 않은 상태이다. 위암의 조직발생에 관해서

는 광학현미경, 전자현미경적 연구외에도 조직화학적 방법에 의해 점액의 화학적 성분을 조사함으로써 위암이 장화생 세포에서 유래한다는 보고도 있다^{22, 27, 30~33}. 그러나 미분화암에서 부분적인 분화를 보인다는 점, Ming 등³⁴의 60예의 위암중 광학 및 전자현미경으로도 그 기원세포를 찾을 수 없는 예가 많았던 점등은 위암의 조직발생에 대해 논란이 있다는 증거이며, 따라서 다른 방법론으로서 위암의 조직발생에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다. 따라서 저자는 지금까지의 평면적인 관점에서 탈피하여 SEM을 이용한 위암의 표면을 관찰함으로써 분화암과 미분화암의 감별을 시도해 보았고 이 감별이 가능하다면 나아가서 위암의 조직발생까지 규명이 가능할 것으로 생각하고 이 연구를 계획하였다.

실험재료로 사용한 11예의 위암을 광학현미경으로 우선 분화암과 미분화암으로 구분을 하고, 그 표면의 구조를 SEM으로 관찰하고 감별점을 찾아보았다. 분화암과 미분화암의 차이중 저배율에서 관찰할 수 있는 소견은 fold의 구조와 배열로서 분화암은 fold가 잘 유지되어 있으나 주변의 fold와의 연결이 복잡하고, fold 사이의 furrow가 넓고 깊은 반면 미분화암에서는 fold의 형성이 불완전하고 개개의 세포로 흩어져 있는 것이 특징이다(Fig. 2, 7). 이 fold의 형성은 세포의 응집력(cohesiveness)과도 유사한 개념으로 생각되며 응집력이 있을 때는 분화암과 같이 fold를 잘 형성하며, 응집력이 없을 때는 미분화암의 형태를 취하는 경향이다. 이는 Takagi 등⁸이 보고한 바와 대동소이한 결과라고 생각된다. 그러나 광학현미경상의 분화도의 결정은 분화암 요소와 미분화암 요소중 지배적인 요소에 따라 분류했지만 실제 SEM으로 관찰되는 부분은 점막의 표면이라는 점에서 SEM으로 관찰된 암조직의 분화도와 광학현미경상의 분화도가 어느정도 상관성이 결여되어 있다는 결점이 있다. 그 예로서 분화암 7예 중 1예는 점막의 표면은 gland형성없이 미분화 형태를 나타내고 있으며, 미분화암 4예중 2예는 대부분 미분화암 형태를 취했지만 표층부는 분화암 형태를 나타내었다. 그러나 fold의 형성 유무는 전형적인 분화암과 미분화암을 감별하는데 중요한 소견이라 생각된다. 개개의 암세포는 그 모양 및 크기가 다양했으나 미분화암의 경우 좀더 다형태성이 저명했다. 이와같은 소견은 광학현미경 수준에서의 일반적인 암세포의 특징과 유사하다고 생각된다. 표면의 미용모는 주변 점막 세포에 비해 크기가 매우 다양하고 그 수는 주변점막에 비해 감소되어 있으며 특히 암세포의 중심부가 먼저 소

실되고 세포의 변연부가 늦게 소실되었는데 일부에서 미용모가 변연부에 남아 있거나 완전히 소실된 사실은 이를 뒷받침하는 소견이라 생각된다(Fig. 9). 정상 표면 상피세포에서 관찰되었던 짧고 규칙적인 미용모가 암세포의 표면을 고무 덮고 있는 세포도 관찰되었으며 분화암과 미분화암에서 공히 나타났으나 분화암에서 좀더 많이 관찰되는 경향이였다. Järvi와 Nevalainen 등²⁰은 전자현미경으로서 미분화암에서도 striated border가 가끔 관찰된다는 이야기와 일맥상통하는 이야기이며, 분화암, 미분화암 공히 striated border가 나타난다는 사실은 Sasano 등³⁵이 intestinal형과 diffuse형 모두가 장화생세포에서 유래하거나 정상 위점막 세포에서 생긴 암에서 이차적으로 생길 가능성이 있다는 사실과도 유사하다고 생각된다. 저자도 4예의 미분화암 예의 모두에서 짧고 규칙적인 미용모가 관찰된다는 점으로 보아 Sasano 등의 의견에 동의하고 싶다. 미용모의 일부는 좀더 크고 수포상을 나타내는 다형태성 미용모로 덮혀 있으며 이는 분화암과 미분화암에 공히 나타나는 소견이며 주변 상피세포와는 판이하게 다른 소견이다(Fig. 4, 8). 다형태성 미용모의 크기는 분화암에서는 최고 2.7 μm , 평균 0.6 μm 로 나타났으며 미분화암의 경우 최고 2.3 μm , 평균 1.2 μm 이며 분화암과 미분화암에서의 뚜렷한 차이점은 발견할 수 없었다. 다형태성 미용모가 암세포에서 특징적으로 출현한다는 보고는 이미 알려진 사실이다^{36~40}. 다형태성 미용모는 종양세포에서의 과도한 세포막 활동(extraordinary amount of surface activity)에 의한 결과라고 생각되고 있으며³⁶ 종양세포의 macropinocytosis의 결과로 설명하기도 하며³⁷ 정상세포에서도 나타날 수 있는데 주로 세포분열때 나타난다고 한다^{36, 41}. 다형태성 미용모는 종양세포의 특이한 소견은 아니지만 상피세포의 빠른 교체물 의미하며^{42, 43}, 과거 다형태성 미용모가 종양에서 특이한 변화다^{39, 44, 45}라고 하는 종전의 질문에 대해 Rubio⁴⁵는 anisovillosis가 암세포에서 가장 뚜렷한 소견이라고 했다. 본 연구에서도 다형태성 미용모는 분화암과 미분화암을 구별하는 소견은 아니더라도 악성종양을 시사하는 중요한 소견이라고 생각되며, 미용모의 수가 주변 상피세포보다 감소한 것은 선암의 일반적인 특징이기도 하다^{46, 47}.

Hemispheric colliculi는 분비과립의 밀집으로 인해 내강쪽으로 둥글게 돌출된 부분으로 대체로 미용모와 함께 관찰되며(Fig. 5), 그 수는 부위에 따라 다르며 분비기능과 관계있는 것으로 생각하고 있다⁸. 따라서 분화암에서 미분화암보다 더 잘 관찰될 수 있다. 본

연구에서도 이와 일치하는 소견을 나타냈다. 장화생은 미분화암 1예를 제외한 모든 예에서 관찰되었는데 분화암은 전반적으로 광범위하게 나타났으며, 미분화암에서는 분화암에 비하면 아주 부분적으로 관찰되었고 종양부위와 직접 연결된 부분을 찾을 수 없었다. SEM 으로서도 장화생 세포는 쉽게 관찰되었는데 표면은 대개 편평하고 미용모는 소실되거나 세포의 변연을 따라 일부 남아 있으며 주위 세포와 경계가 분명하다(Fig. 10). 이는 Ming 등³⁴⁾이 전자현미경상 striated border 가 관찰된다는 사실과는 상반된 소견이다. Takagi 등⁸⁾은 투과형 전자현미경상 관찰되었던 미용모가 SEM 으로 관찰되지 않는 것은 세포의 표면과 세포간 groove 에 있는 미용모가 점액다당류(mucopolysaccharide)층으로 덮여있기 때문이라고 설명했다.

이상에서 언급한 바와 같이 분화암과 미분화암은 그 분화도가 양 극단인 경우는 쉽게 감별이 되지만 분화도가 중등도인 경우는 SEM 으로 감별하기가 어려웠다. 그러나 주변접막과 암조직과는 fold 의 발달이나 분포, 세포의 다형태성과 다형태성 미용모들은 악성을 시사하는 주요한 소견이었고, 특히 다형태성 미용모는 Kenemans 등⁴⁰⁾이 언급한 바와 같이 "early marker of irreversible neoplastic transformation"으로 보아도 타당하리라 생각된다. 미용모가 미분화암에서도 흔히 관찰된 점은 종전의 투과형 전자현미경 소견과는 상이한 소견으로 주변 장화생 세포에서 관찰되었던 striated border, 다형태성 미용모 그리고 미용모가 완전히 소실된 세포가 뒤섞여 나타나는 것으로 보아서는 Sasano 등³⁵⁾과 같이 암세포가 장화생 세포에서 유래했을 가능성과 위고유선에서 유래한 위암에서 생긴 이차적인 위암의 2가지의 가능성을 모두 생각할 수 있다. 이와 함께 4예의 미분화암중 3예가 전반적인 조직학적 소견은 미분화암에 속하지만 일부 분화암 형태를 취하고, SEM 상 미용모가 쉽게 관찰된다는 점은 intestinal 형과 diffuse 형의 중간형태에 속하는 부류라고 생각되며, Ming 등³⁴⁾이 intestinal 형과 diffuse 형이 공통된 전구세포에서 유래한다는 설과 일맥상통하며, Sasano 등³⁵⁾이 미분화된 세포가 위선의 모세포와 조미세포구조에서 유사하며 또한 장화생 세포와의 유사점이 있다고 한 점은 분화암과 미분화암이 공통된 전구세포에서 유래한 것이라는 설을 뒷받침하는 소견이라 생각된다. 그러나 본 연구가 암조직의 표면을 관찰한 바로는 세포의 배열, 모양, 미용모의 존재유무등을 관찰할 수 있었지만 외관상 세포 형태는 유사하여 개개의 세포가 어떤 종류의 세포인지를 구분하기는 어려웠다. 따라서

세포수준에서 고배상력 SEM 으로 세포의 횡단면을 관찰하고, 나아가서 세포 및 조직화학, 면역화학법등이 적용된다면 위암의 조직발생 규명은 그 장래가 밝다고 생각된다.

요 약

저자는 위암을 우선 광학현미경 및 투과형 전자현미경에서 분화암과 미분화암으로 구분하여 SEM 상의 형태를 관찰하고 그 차이점을 알아보려고 위생검으로 위암이 증명된 11예의 위절제 표본을 광학현미경, 투과형 전자현미경 및 주사형 전자현미경으로 관찰하였다.

광학현미경적으로는 11예중 7예가 분화암이었으며 병변 주변으로 심한 장화생을 나타냈고, 7예중 1예는 접막의 표층은 미분화암 형태를 나타냈으며, 미분화암은 4예로 주위의 장화생은 부분적으로만 나타났으며 4예중 2예는 표층에만 분화암 형태를 나타냈다. 투과형 전자현미경적으로는 분화암과 미분화암 모두 세포의 자유면은 미용모로 덮여 있으며, 분화암은 미용모가 고루 덮여 있는 경우가 많은 반면 미분화암은 미용모가 있는 부분과 없는 부분이 섞여 나타났으며, 분비과립은 그 수와 밀도가 다양했으며 분화암의 경우 위암 뚜렷하게 나타났다. 주사형 전자현미경으로는 fold 의 발달과 배열의 불규칙성과 개개세포의 다형태성, 다형태성 미용모가 주위 접막에 비해 저명하게 나타났다. 분화암은 fold 가 잘 유지되어 있어서 fold 간의 furrow 가 깊고 넓은 반면 미분화암에서는 fold 가 작고 불규칙하고 furrow 의 형성이 불완전하다. 개개의 암세포는 광학현미경 수준에서 관찰되었던 다형태성, 응집력의 결핍등이 뚜렷했으며, 특이한 사항은 다형태성 미용모의 출현이다. 이 다형태성 미용모는 분화암과 미분화암에 공히 나타났으며 그 크기는 평균 $0.6\mu m$ 와 $1.2\mu m$ 이며 투과형 전자현미경상 보는 striated border 즉 길고 규칙적인 미용모와 다형태성 미용모가 섞여 나타나는 것이 흔히 관찰된다. 특히 분화암의 경우는 더욱 뚜렷하다. 그러나 분화도가 중등도인 경우는 주사형 전자현미경으로 구별이 어려웠다. 장화생은 분화암의 경우 병변주위로 심하게 나타났으나 미분화암인 경우는 아주 부분적으로 존재했으며, 주사형 전자현미경으로는 표면이 편평하며 주위세포와의 경계가 뚜렷하게 나타났다.

이상의 소견으로 위암은 분화도가 양극단인 경우는 주사형 전자현미경으로 구별이 가능하나 그 중간형태는 구별이 어려웠으며, 불규칙한 fold, 세포의 다형태

성, 다형태성 미용모들은 악성을 시사하는 주요한 소견이었다. 그리고 장화생 세포에서 관찰되었던 striated border가 주사형 전자현미경상 분화암과 미분화암에서 흔히 관찰되고 부분적으로 미용모가 소실된 세포와 완전히 소실된 세포가 섞여 나타나고, 주변접막에 장화생 세포가 나타남은 분화암과 미분화암이 공통된 전구세포에서 유래했을 가능성을 뒷받침해주는 소견으로 생각된다.

REFERENCES

- 1) Bessis M: *Red cell shapes. An illustrated classification and its rationale.* *New Rev Fr Hematol* 12:721, 1972
- 2) Bessis M: *Living blood cells and their ultrastructure.* Heidelberg berlin New York, Springer-verlag, 1973, p45
- 3) Notario A, Comin U and Meduri D: *Alterazioni eritrocitarie di superficie in diverse eritropatie primitive e secondarie.* *Min Med* 65:3483, 1974
- 4) Tanaka K and Mitsushima A: *A preparation method for observing intracellular structures by scanning electron microscopy.* *J Microsc* 133:213, 1984
- 5) Tanaka K, Iino A and Naguro T: *Scanning electron microscopic observation on intracellular structures of ion-etched materials.* *Arch Histol Jap* 39:165, 1976
- 6) Tanaka K: *Demonstration of intracellular structures by high resolution scanning electron microscopy.* *Scanning Electron Microsc* 2:1, 1981
- 7) Yamada N, Nagano M, Murakami S, Ikeuchi M, Oho E, Baba N, Kanaya K and Osumi M: *Preparation for observation of fine structure of biological specimens by high-resolution SEM.* *J Electron Microsc* 32:321, 1983
- 8) Takagi T, Takebayashi S, Tokuyasu K and Tsuji K: *Scanning electron microscopy on the human gastric mucosa: fetal, normal and various pathological conditions.* *Acta Pathol Jap* 24:233, 1974
- 9) Pfeiffer CJ: *Surface topology of the stomach in man and the laboratory ferret.* *J Ultrast Res* 33:252, 1970
- 10) Pfeiffer CJ: *Gastric surface morphology in man, monkey, and ferret. Evidence for in situ surface cell degeneration.* *Exp Mole Pathol* 13:319, 1970
- 11) Fallah E, Schuman BM, Watson JHL and Goodwin J: *Scanning electron microscopy of gastroscopic biopsies.* *Gastrointestinal Endoscopy* 22:137, 1976
- 12) Tode A, Muiyake T, Suzuki T, Yamamoto Y, Ariyoshi J, Hajiro K and Oishi M: *Scanning electron microscopic observation of the protruded lesions on the stomach with special reference to atypical epithelium.* *Jap J Gastroent* 76:1069, 1973
- 13) Riddle JM and Rosenberg BF: *The surface topography of acute erosive gastritis.* *Scanning Electron Microsc* 3:769, 1974
- 14) Harding RK and Morris GP: *Pathological effects of aspirin and of hemorrhagic shock on the gastric mucosa of the rat.* *Scanning Electron Microsc* 5:253, 1976
- 15) Harding RK and Morris GP: *Cell loss from normal and stressed gastric mucosae of the rat. An ultrastructural analysis.* *Gastroenterology* 72:857, 1977
- 16) Murakami T, Iida N, Taguchi T, Ohtani O, Kikuta A, Ohtsuka A and Itoshima T: *Conductive staining of biological specimens for scanning electron microscopy with special reference to ligand-mediated osmium impregnation.* *Scanning Electron Microsc* 1:235, 1983
- 17) Murakami T and Jones AL: *Conductive staining of biological specimens for non-coated scanning electron microscopy: double staining by tannin-osmium and osmium-thiocarbohydrazide-osmium methods.* *Scanning Electron Microsc* 1:221, 1980
- 18) Luft JH: *Improvement in epoxyresin embedding method.* *J Biophys Biochem Cytol* 9:409, 1961
- 19) Reynolds ES: *The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy.* *J Cell Biol* 17:208, 1963

- 20) Robbins SL, Cotran RS and Kumar V: *Pathologic basis of disease. 3rd edition, Philadelphia, WB Saunders, 1984, p 821*
- 21) Haenszel W and Correa P: *Developments in the epidemiology of stomach cancer over the past decade. Cancer Res 35:3452, 1975*
- 22) Wattenberg LW: *Histochemical study of aminopeptidase in metaplasia and carcinoma of the stomach. Arch Pathol 67:281, 1959*
- 23) Hess R: *Early cancer of the stomach. Gastroenterologica 86:365, 1956*
- 24) Järvi O and Lauren P: *On the role of heterotopias of the intestinal epithelium in the pathogenesis of gastric cancer. Acta Pathol Microbiol Scand 29:26, 1951*
- 25) Morson BC: *Carcinoma arising from areas of intestinal metaplasia in the gastric mucosa. Br J Cancer 9:377, 1955*
- 26) Lauren P: *The two histological main types of gastric carcinoma: Diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histoclinical classification. Acta Pathol Microbiol Scand 64:31, 1965*
- 27) Goldman H and Ming SC: *Mucins in normal and neoplastic gastrointestinal epithelium. Arch Pathol 85:580, 1968*
- 28) Nevalainen TJ and Järvi OH: *Ultrastructure of intestinal and diffuse gastric carcinoma. J Pathol 122:129, 1977*
- 29) Järvi O, Nevalainen T, Ekfors T and Kulatunga A: *The classification and histogenesis of gastric cancer. Proceedings of the XI International Cancer Congress, Florence, Excerpta Medical International Congress Series. Tumors of specific sites. Excerpta Medica 6:228, 1975*
- 30) Lev R: *The mucin histochemistry of normal and neoplastic gastric mucosa. Lab Invest 14:2080, 1966*
- 31) Planteydt HT and Willighagen RGJ: *Enzyme histochemistry of the human stomach with special reference to intestinal metaplasia. J Pathol Bact 80:317, 1960*
- 32) Rubin W, Ross RH, Jeffries GH and Sleisinger MH: *Intestinal heterotopia—a fine structural study. Lab Invest 15:1024, 1966.*
- 33) Goldman H and Ming SC: *Fine structure of intestinal metaplasia and adenocarcinoma of the human stomach. Lab Invest 18:203, 1968*
- 34) Ming SC, Goldman H and Freiman DG: *Intestinal metaplasia and histogenesis of carcinoma in human stomach. Light and electron microscopic study. Cancer 9:1418, 1967*
- 35) Sasano N, Nakamura K, Arai M and Akazak K: *Ultrastructural cell patterns in human gastric carcinoma compared with nonneoplastic gastric mucosa. Histogenetic analysis of carcinoma by mucin histochemistry. J Natn Cancer Inst 43:783, 1969*
- 36) Porter KR and Fonte VG: *Observations on the topography of normal and cancer cells. Scanning Electron Microsc 1:683, 1973*
- 37) Vesely P and Boyde A: *The significance of SEM evaluation of the cell surface for tumor cell biology. Scanning Electron Microsc 1:689, 1973*
- 38) Croft WA, Nelson CE and Nilsson T: *Scanning electron microscopy of exfoliated malignant and non-malignant human urothelial cells. Scand J Urol Nephrol 13:49, 1979*
- 39) Domagala W and Koss LG: *Configuration of surfaces of human cancer cell in effusions. A scanning electron microscopic study of microvilli. Virchows Arch B Cell Pathol 26:27, 1977*
- 40) Kenemans P, Davina JHM, de Hann RW, van der Zanden P, Vooy's GP, Stolk JG and Stadhouders AM: *Cell surface morphology in epithelial malignancy and its precursor lesions. Scanning Electron Microsc 3:23, 1981*
- 41) Fox TO, Sheppard JR and Burger MM: *Cyclic membrane changes in animal cells: transformed cells permanently display a surface architecture detected in normal cells only during mitosis. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 68:244, 1971*
- 42) Kjoergaard J, Starklint H, Bierring F and Thybo E: *Surface topography of the healthy and diseased transitional cell epithelium of the human urinary bladder. Urol Int 32:34, 1977*
- 43) Koss LG: *Some ultrastructural aspects of exp-*

- erimental and human carcinoma of the bladder. Cancer Res 37:2824, 1977*
- 44) Saxholm HJK and Reith A: *The surface structure of 7, 12-Dimethylbenz (a) Anthracence Transformed C3H/10T1/2 cells. A quantitative scanning electron microscopical study. Eur J Cancer 15:843, 1979*
- 45) Rubio CA and Kranz I: *The exfoliating cervical epithelial surface in dysplasia, carcinoma in situ and invasive carcinoma. Acta Cytol 20: 140, 1976*
- 46) Ferenczy A and Richart RM: *Scanning electron microscopy of hyperplastic and neoplastic endometria. Scanning Electron Microsc 1:613, 1973*
- 47) Spring-Mills E and Elias JJ: *Cell surface differences in ducts from cancerous and noncancerous human breast. Science 188:947, 1975*

=Abstract=

Ultrastructure of Adenocarcinoma of the Stomach by Scanning Electron Microscope
Kyung-Rak Sohn, M.D., Jyung-Sik Kwak, M.D.
and Tae-Joong Sohn, M.D.

Department of Pathology Kyungpook National University Taegu, Korea

The author studied 11 cases of adenocarcinoma of the stomach confirmed by gastrofiberscopic biopsy before in order to differentiate between diffe-

rentiated and undifferentiated adenocarcinoma by scanning electron microscope. Light and transmission electron microscopic examination were done, too. Seven of them are differentiated accompanied by severe intestinal metaplasia and four of them are undifferentiated with nearly focal intestinal metaplasia. Two of the undifferentiated cases shows focal tubular differentiation on the superficial region of the mucosa.

Microvilli on the free border are long, regular on the differentiated type but in state of variable loss of microvilli under the transmission electron microscope. Number and density of the mucous granules are variable.

Scanning electron microscopic examination shows prominent disorganization of the folds, cellular pleomorphism and pleomorphic microvilli are suggestive of early marker of neoplastic transformation. The size of them are $0.6 \mu\text{m}$ and $1.2 \mu\text{m}$ on the differentiated and undifferentiated type respectively.

Disorganization of the folds is an important differential point between differentiated and undifferentiated type on the lower power examination. Development of folds, furrow, and hemispheric colliculi are more prominent on the differentiated adenocarcinoma. Presence of striated border, partial or complete loss of microvilli and intestinal metaplasia on the undifferentiated and differentiated adenocarcinomas are consistent with origin from common precursor cells.

Legend for Figures

- Fig. 1. Differentiated adenocarcinoma, stomach, TEM & LM. Microvilli(arrow), variable number and density of secretory granules on the apical cytoplasm and lumen are prominent. <Inset> shows irregular surface, well preserved glands and prominent cellular pleomorphism but cohesiveness is preserved. ($\times 8,000$).
- Fig. 2. Differentiated adenocarcinoma, stomach, SEM. Prominent folds (dotted circle), deep and wide furrows (arrow) are well visualized. Surface of the fold shows slight erosive changes. ($\times 440$).
- Fig. 3. Differentiated adenocarcinoma, stomach, SEM. Size of folds and individual cells are markedly irregular. Some tumor cells are arranged around gastric pit(*). Intercellular groove is very shallow or flattened(arrow head). Surface is covered with fine regular microvilli(arrow) but some are free of microvilli. ($\times 1,400$).
- Fig. 4. Differentiated adenocarcinoma, stomach, SEM. Pleomorphic microvilli(arrow) and fine regular microvilli are well visualized. ($\times 2,400$).
- Fig. 5. Differentiated adenocarcinoma, stomach, SEM. Tumor cell surface is covered with round hemispheric colliculi (arrow) and a few microvilli. Inverse relationship between hemispheric colliculi and microvilli is recognizable. ($\times 5,000$).
- Fig. 6. Undifferentiated adenocarcinoma, stomach, TEM & LM. Surface microvilli are well visualized. Secretory granules are scattered on the apical cytoplasm. Density of the secretory granules are variable. <Inset> shows prominent pleomorphic tumor cells which are dispersed without evidence of differentiation. ($\times 12,000$).
- Fig. 7. Undifferentiated adenocarcinoma, stomach, SEM. Architecture of folds are nearly destructed. Exfoliated tumor cells and necrotic debris are scattered throughout. ($\times 440$).
- Fig. 8. Undifferentiated adenocarcinoma, stomach, SEM. Pleomorphic microvilli(arrow) are prominent but some of tumor cells are covered with fine regular microvilli. Tumor cells are covered with variable sized pleomorphic microvilli on higher magnification. ($\times 2,400$).
- Fig. 9. Undifferentiated adenocarcinoma, stomach SEM. Surface of the tumor cells shows partial loss of microvilli on the central area and their peripheral margination. Two empty spaces on the lower half are caused by exfoliation of tumor cells. ($\times 4,400$.)
- Fig. 10. Undifferentiated adenocarcinoma, stomach, SEM. Intestinal metaplastic cells(arrow) are scattered around gastric pit. Surface of the metaplastic cells are smooth and protruded compared with adjacent cells. ($\times 1,400$).







