

# 종양의 감별진단에 있어서 Epithelial Membrane Antigen, Carcinoembryonic Antigen 과 Leukocyte Common Antigen 의 응용

고려대학교 의과대학 임상병리과

박 미 자 · 김 인 선 · 백 승 룡

## 서 론

외과병리분야에서 분화가 나쁜 여러 종양들을 감별 진단하여 환자의 치료방법의 선택과 예후평가의 기준이 되게 하는 일은 매우 중요한 것이다.

보통은 몇가지 조직화학염색을 이용하게 되지만 감별이 어려운 경우에는 전자현미경적 검색이 요구되어 지기도 한다. 그러나 이는 시간이 많이 걸리고 고가장비가 필요하며 모든 병리의사들이 쉽게 접근할 수 없다는 사실들 때문에 흔히 이용되지 못하고 있는 실정이다.

따라서, 최근 여러종류의 종양특이항원을 조직에서 검출하는 면역조직화학적 방법은 이러한 목적을 위해 대응될 수 있는 검사방법으로 알려져 있다.

최근 연구자들은 1983년부터 1985년까지 2년동안에 주로 분화되지 않은 상피암종(undifferentiated carcinoma)과 전이성 상피암종(metastatic carcinoma)의 감별이 조직학적으로나 조직화학염색상으로도 어려웠던 15례를 대상으로, 인유지방질막에서 추출한 것으로 정상상피조직의 내면과 표면막에 국한되어 있고 많은 종양들과 비종양성 질환들에서 염색성이 증가되는 것으로 알려져 있는 Epithelial membrane antigen<sup>1-3)</sup> (이하 EMA 라 약함), 태아의 위장관조직에서 생성되며 위장관계, 유방, 폐, 난소등 여러 종양에서 출현하는 것으로 알려져 있는 Carcinoembryonic antigen<sup>3-14)</sup> (이하 CEA 라 약함) 그리고 정상 및 종양성 조혈세포에서 출현하는 Leukocyte common antigen<sup>3, 17-19)</sup> (이

하 LCA 라 약함)에 대해 면역과산화효소염색 (immunoperoxidase staining)을 시행하여 봄으로써 그들의 진단적 응용가치를 평가해 보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1) 대 상

1983년에서 1985년 사이에 통상적 방법으로 진단되었던 15례를 대상으로 하여 환자의 병목지와 외과병리기록지 및 병리표본을 재검토하였다.

### 2) 방 법

(1) 통상적 조직표본 검색 : 검사가 의뢰된 조직을 통상적인 포르말린고정과 파라핀포매를 한 후 5~6  $\mu$ m 절편을 만들어서 Hematoxylin-Eosin 염색을 하였고 필요시에 periodic acid-Schiff, reticulum, mucicarmine 그리고 Fontana-Masson 등의 특수염색을 시행하였다.

#### (2) 면역 과산화효소법 :

(1) 시약 : 일차항체는 DAKO 제품으로 EMA 와 LCA 는 쥐에서 생성된 monoclonal antibody 를 사용하였고, CEA 는 토끼에서 생성된 항체를 사용하였다. 이차항체는 EMA 와 LCA 에서는 rabbit antimouse antibody 에, CEA 에서는 swine antirabbit antibody 에 peroxidase 를 결합시킨 현정을 이용하였다.

#### (2) 방법 :

① 5~6  $\mu$ m 두께의 파라핀포매된 조직을 아교로 처리한 슬라이드에 붙인 후 60°C oven 에 한 시간정도 올려놓는다.

② 다음과 같은 탈 파라핀 및 함수과정을 시행한다.

\* 이 논문은 1985년도 5월 17일 춘계학술대회에서 구 연되었음.

Table 1. Reactions with 3 tumor specific antigens in differential diagnosis of undifferentiated carcinoma and lymphoma

| Case No. | Age | Sex | Pathologic Diagnosis  | Immunoperoxidase stain |     |     | Final Diagnosis   |
|----------|-----|-----|---|------------------------|-----|-----|---|
|          |     |     |   | EMA                    | CEA | LCA |   |
| 1        | 64  | M   | metastatic ca. cervical lymph node                          | +                      | +   | -   | metastatic ca. cervical lymph node                          |
| 2        | 49  | F   | leiomyoblastoma small intestine                             | -                      | +   | -   | undifferentiated ca. small intestine                        |
| 3        | 39  | F   | large cell lymphoma stomach                                 | -                      | -   | +   | large cell lymphoma stomach                                 |
| 4        | 35  | F   | small cell ca. esophagus                                    | +                      | -   | -   | small cell ca. esophagus                                    |
| 5        | 32  | M   | adenocarcinoma with heavy lymphocytic infiltration, stomach | +                      | +   | -   | adenocarcinoma with heavy lymphocytic infiltration, stomach |
| 6        | 55  | M   | undifferentiated ca. jejunum                                | +                      | +   | -   | undifferentiated ca. jejunum                                |

- 가) Xylene에서 5분씩 2번 처리한다.  
 나) 100% 알콜로 옮겨서 3분씩 2번 처리한다.  
 다) 95% 알콜에서 3분간 처리한다.  
 라) 70% 알콜에서 3분간 처리한다.  
 마) 증류수로 세척한다.
- ③ Endogenous peroxidase를 억제시키기 위해서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-methanol 용액에서 30분간 처리한 후 증류수로 세척한다.
- ④ 종양특이항원의 검출을 항진시키기 위한 과정으로 0.1% 트립신에서 섭씨 37도를 유지하면서 30분간 처리한 후 증류수로 세척한다.
- ⑤ Tris-buffer(pH 7.4)에서 3분간 3번 세척한다.
- ⑥ 슬라이드들을 습윤상자내에 넣고 EMA와 LCA인 경우는 1:10으로 희석된 normal rabbit serum으로, CEA인 경우는 normal swine serum을 50람다 정도 가한 후 실온에서 30분간 incubate시킨다.
- ⑦ 습윤상자내에서 정상혈청을 가볍게 떨어버린 후 45분동안 일차항체를 가해 incubate시킨다. EMA와 LCA는 1:30으로 희석된 mouse antibody를, CEA는 1:100으로 희석된 rabbit antibody를 각각 사용한다.
- ⑧ Tris buffer에서 3분간 3번 세척한다.
- ⑨ 습윤상자에서 peroxidase conjugate된 이차항체를 30분 동안 incubate시킨다. 이때 EMA와 LCA는 1:50으로 희석된 rabbit antimouse immunoglobulin을, CEA는 1:50으로 희석된 swine antirabbit immunoglobulin을 각각 사용한다.
- ⑩ Tris buffer에서 3분간 3번 세척한다.

- ⑪ Diaminobenzidine(DAB) 6mg을 10ml의 tris buffer에 녹인 후 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3람다를 가한다.
- ⑫ 현미경 검색하에서 원하는 붉은 갈색이 나올때까지 DAB에서 발색시킨다.
- ⑬ 흐르는 물에서 세척한다.
- ⑭ Mayer's hematoxylin으로 3분간 대조염색한다.
- ⑮ 흐르는 물에서 세척한 후 glycerin jelly로 봉입한다.

## 결 과

연구대상이었던 15례를 다음의 몇가지 경우로 분류해서 결과를 분석하였다.

### 1) 분화되지 않은 상피암과 악성림파종과의 감별이 어려웠던 경우(Table 1)

(1) 1번례 : 환자는 64세된 남자로 오른쪽 귀뒤에 동통을 수반한 종괴가 6개월전부터 만져졌고 조직생검의 현미경검사소견상 크면서 수포성의 핵을 갖고있는 한 가지 계통의 종양세포들이 전반적으로 침윤되어 있었고 종양세포들 사이사이에는 성숙림파구들이 비교적 많이 섞여있어서 분화가 되지않은 전이성 상피암과 면역아구성림파종(immunoblastic sarcoma)의 감별이 어려웠었는데 EMA와 CEA에 종양세포만이 양성으로 나타났고 LCA에는 음성으로 나와서 상기도관 원발의 상피암에서 전이된 것으로 생각하고 맹목생검을 시행했으나 음성이었다(Fig. 1). 그러나 환자는 방사선치료에 좋은 반응을 보였고 치료도중 비후두에 원발성암

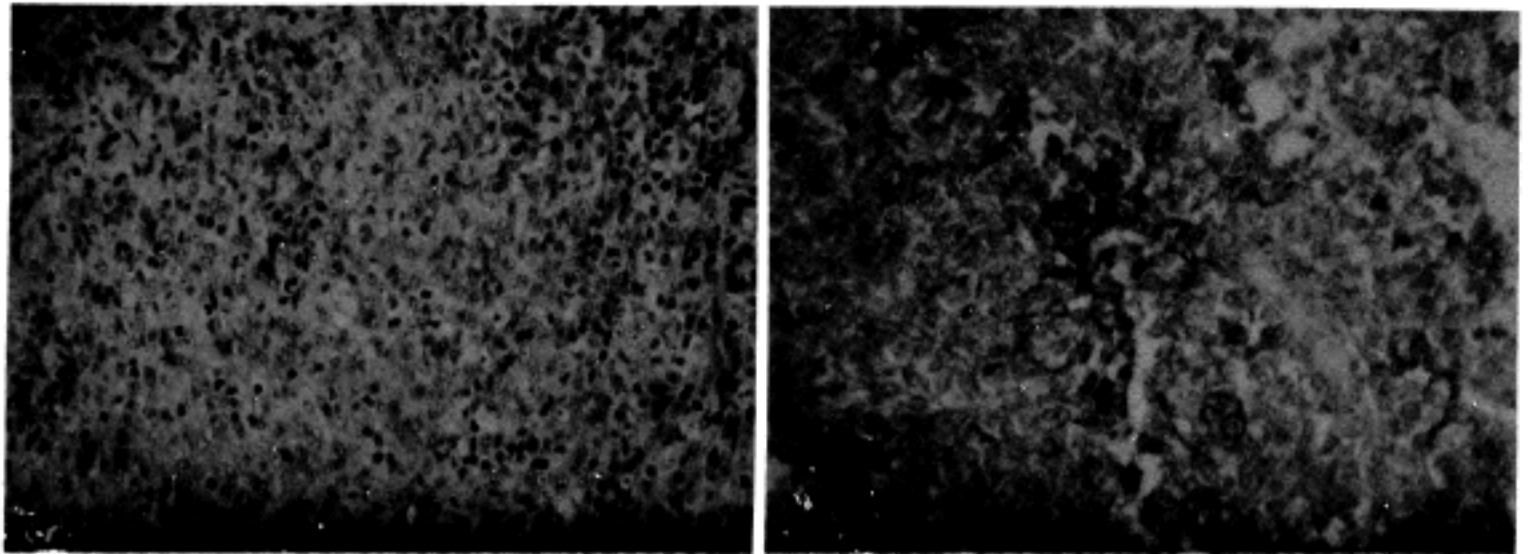


Fig. 1. Metastatic undifferentiated carcinoma of cervical lymph node.

- A) The large tumor cells form syncytium and are infiltrated by lymphocytes and plasma cells producing an appearance of malignant lymphoma. (H&E stain,  $\times 250$ )
- B) The staining for EMA showing membrane and cytoplasmic positivity. (Immunoperoxidase stain,  $\times 250$ )

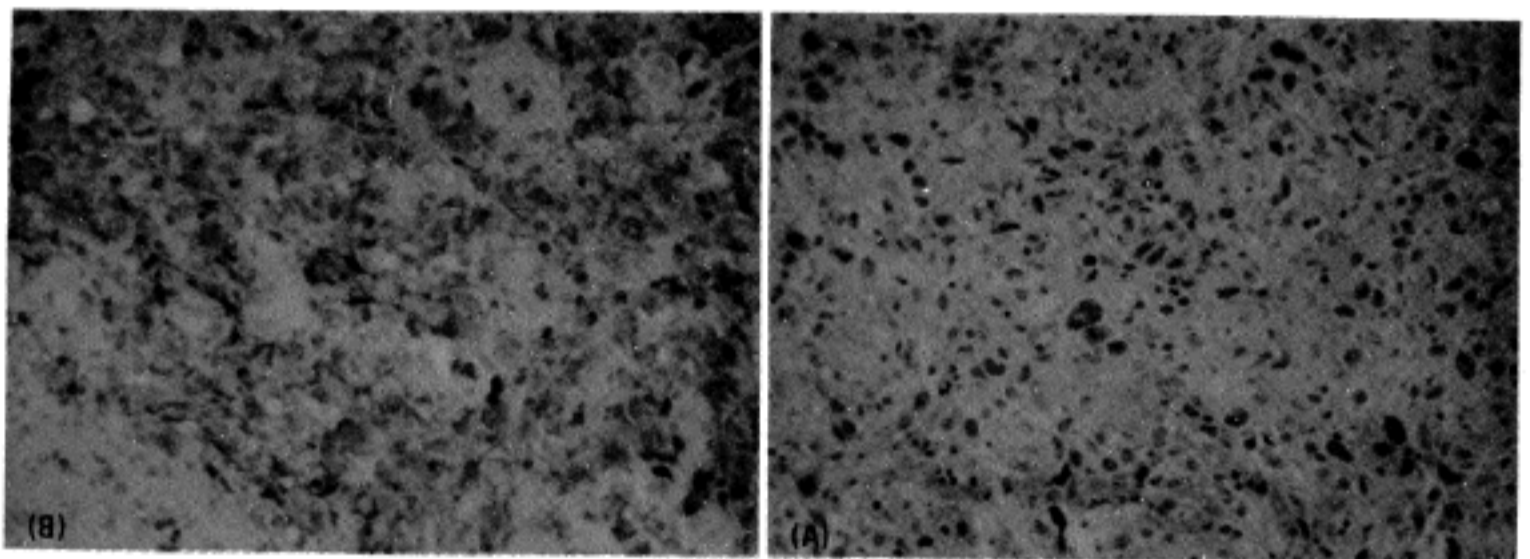


Fig. 2. Large cell lymphoma of stomach obtained by endoscopy.

- A) Diffuse sheets of large tumor cells having vesicular nuclei and prominent nucleoli admixed with inflammatory cell infiltration. (H&E stain,  $\times 250$ )
- B) Stain for LCA showing cytoplasmic positivity in diffuse sheets of neoplastic cells. (Immunoperoxidase stain,  $\times 250$ )

이 있음을 발견하였다.

(2) 2번째 : 이 때는 다른 병원에서 검사를 의뢰했던 경우로 조직의 육안소견상 장막쪽으로 튀어나온 다발성종괴로 중배엽조직에서 발생한 종양으로 생각되어졌으나, 현미경적 검사상 병리외사들 간에서 의견의 차이가 많아 분화되지 않은 상피암, 악성평활근종 또는 임파종 등의 감별이 어려웠다. 특수염색상 PAS에서는 음성이었고 reticulum 염색에서는 망상섬유의 증가를 보였다. EMA와 LCA 염색은 음성이었고 CEA에서는 전반적인 종양세포가 양성으로 나타나서 미분화세포종으로 진단하였다.

(3) 3번째 : 환자는 39세 여자로서 2개월정도 지속되는 상복부동통을 호소하였었고 UGI와 복부단층촬영상에서 위 기저부의 암을 의심하여 시행한 위내시경검사소견상 크면서 수포성의 핵을 갖고 있으면서 한 개 정도의 뚜렷한 핵소체를 갖고있는 종양세포들이 전반적으로 침윤되어 있었고 어떤 특정한 한 종양세포의 분화를 보이지 않아서 분화가 나쁜 선암(poorly differentiated adenocarcinoma)과 악성임파종과의 감별이 문제가 되어 PAS와 mucicarmine 등의 특수염색을 시행하였더니 모두에서 음성반응을 보였는데 EMA와 CEA 염색을 시행한 결과 음성반응을 보였고 LCA에서는

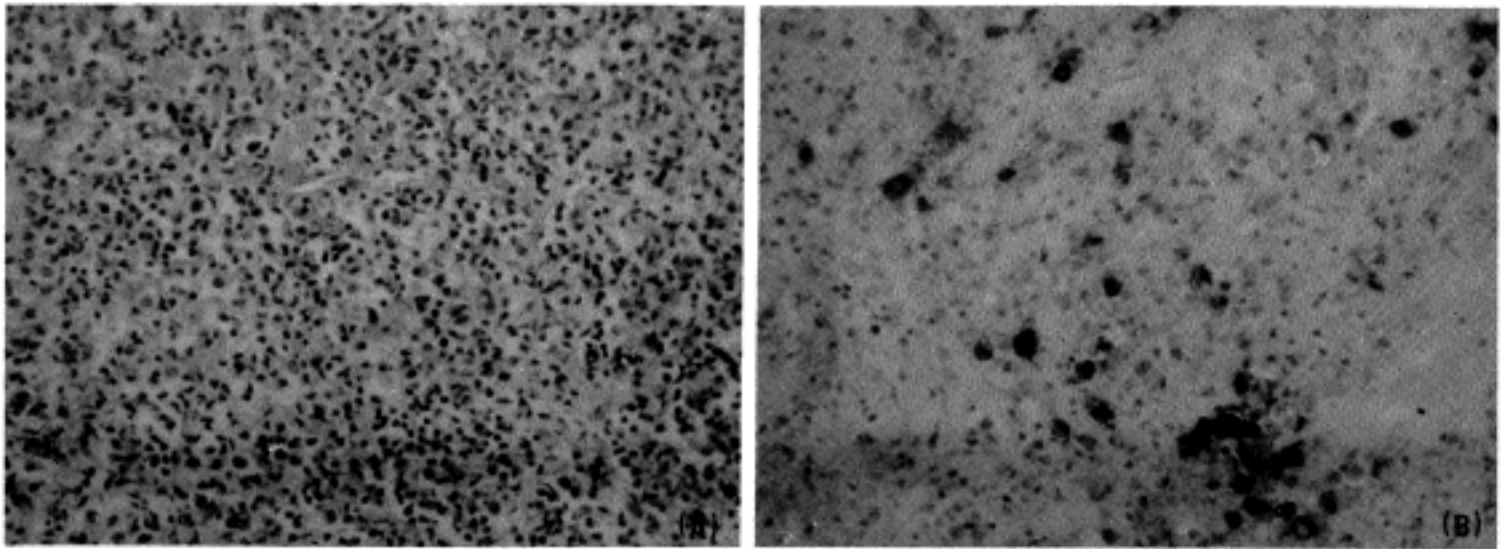


Fig. 3. Poorly differentiated adenocarcinoma with heavy lymphocytic infiltration of stomach.

- A) Nests of tumor cells reminiscent of signet-ring cells accompanied by heavy infiltration of lymphocytes, plasma cells and eosinophils. (H&E stain,  $\times 250$ )  
 B) The stain for EMA showing membrane and cytoplasmic positivity of tumor cells. (Immunoperoxidase stain,  $\times 250$ )

양성으로 나오므로써 대세포형림파종(large cell lymphoma)으로 진단하였다. 생검진단후 시행한 위절제술 조직표본에서 전형적인 림파종의 육안적 소견과 조직학적 소견을 보여서 악성림파종으로 진단되었다(Fig. 2).

(4) 4번째 : 환자는 35세 여자로서 2개월 전부터 연하곤란과 상복부동통이 있어서 식도의 병변을 의심하여 시행한 식도 X선 촬영상 작은 다발성종괴가 있었다. 내시경으로 시행한 조직검사 소견상 종양은 비교적 작고 둥글며 진하게 염색되는 핵을 갖고 있는 세포들로 구성되어 있어서 소세포암(small cell carcinoma)으로 생각하였으나, 병리의사들간에 신경내분비계 종양(neuroendocrine tumor)이나 악성림파종등으로 의견의 차이를 보여서 감별이 어려웠다. 그러나 EMA에서 양성, CEA와 LCA에서는 음성이어서 림파종이나 신경내분비계종양의 가능성을 배제할 수 있었다 환자는 방사선치료에 좋은 반응을 보여 식도에서 보였던 종괴는 없어졌으나 7주 후부터 가슴벽에 다시 종괴가 나타나기 시작했으며 그 종괴로부터의 조직검사소견은 먼저 시행했던 조직검사소견과 거의 동일하였지만 종양세포의 크기가 약간 커져있었다. 그후 환자는 사망하였다.

(5) 5번째 : 환자는 32세 남자로서 토혈과 흑모증이 주소였고 위암의 진단하에 절제된 위에는 점막하 조직까지 침범된 분화가 나쁜 진행성 선암에 심한 림파구의 침윤을 수반하는 종양이 있었다. 고정이 불충분하여 각 세포들의 세포질은 공포화되어 있어서 암종인지 악성림파종인지의 감별을 어렵게 하였다. 이는 PAS와

mucicarmine에 모두 음성이었다. EMA, CEA와 LCA 염색을 시행하였더니 종양세포들은 EMA와 CEA에서 모두 양성이고 LCA에서는 종양세포는 음성반응을 보였고 사이에 침윤된 림파구에서만 양성으로 나타나서 심한 림파구의 침윤을 수반한 분화가 나쁜 선암으로 진단하였다(Fig. 3).

(6) 6번째 : 이 예는 외부에서 의뢰되었던 공장(jejunum)의 생검조직소견으로 다양한 형태를 보이면서 어떤 특정한 암의 특징을 보이지 않는 큰 세포들의 전반적인 침윤으로 되어있었다. 그래서 면역아구성 림파종이라고 생각하였으나 CEA와 특히 EMA염색에서 H-E염색에서 잘 보이지 않았던 관강의 경계가 양성으로 염색되었고 LCA에서는 염색이 되지 않아서 분화가 나쁜 선암으로 진단하였다.

## 2) 전이성 상피암과 멜라닌색소를 갖고 있지 않은 흑색종(amelanotic malignant melanoma)과의 감별이 어려웠던 경우(Table 2)

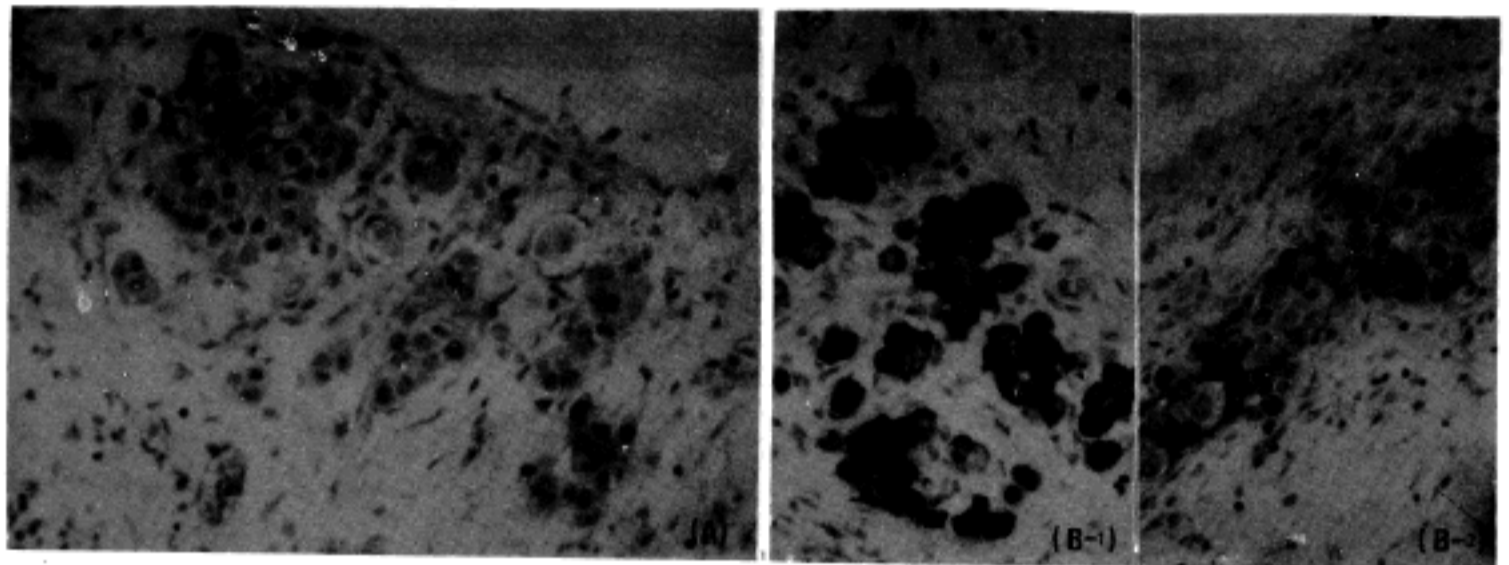
(1) 1번째 : 환자는 50세 남자로서 4개월 전부터 쉼 목소리, 운동기능약화, 10킬로 정도의 체중감소와 함께  $4 \times 5$  cm 크기의 검은 색소가 침착된 종괴가 목에서 만져졌고 다른 곳에서도 몇개의 색소침착된 병변이 있었다. 조직검사상에서 종괴는 커진 림파선이었고, 비전형적인 유사피세포(atypical epithelioid cell)들의 침윤과 색소침착이 있었다. 조직학적 소견과 환자의 색소침착병변을 참작해서 전이성 흑색종으로 진단하였다. 색소가 멜라닌인가를 확인하기 위해 Fontana-Masson



**Table 2.** Reactions with 3 tumor specific antigens in differential diagnosis of metastatic carcinoma and malignant melanoma

| Case No. | Age | Sex | Pathologic Diagnosis                       | Immunoperoxidase stain |     |     | Final Diagnosis                                |
|----------|-----|-----|--|------------------------|-----|-----|--|
|          |     |     |  | EMA                    | CEA | LCA |  |
| 1        | 50  | M   | metastatic melanoma<br>cervical lymph node | +                      | -   | ND  | metastatic adenoca.<br>cervical lymph node     |
| 2        | 48  | M   | metastatic ca.<br>axillary lymph node      | +                      | +   | ND  | metastatic ca. (breast)<br>axillary lymph node |

ND: Not done



**Fig. 4.** Metastatic adenocarcinoma initially diagnosed as metastatic malignant melanoma.

- A) H-E stain of lymph node showing infiltration of atypical epithelial cells having granular abundant cytoplasm. (H&E stain, ×250)
- B) The stain for EMA showing cytoplasmic positivity of group of tumor cells. (Immunoperoxidase stain, ×250)

염색을 시행하였더니 음성이었고 PAS에 약한 양성반응을 보였으며 EMA에 양성반응을 보여 전이성선암으로 생각하였으나 환자는 이미 퇴원되어 원발성병소를 찾지 못하였다. 색소침착된 피부병변의 조직검사결과는 모반(nevus)이었다(Fig. 4).

(2) 2번째 : 환자는 48세 남자였고 6개월 전부터 오른쪽 거드랑이와 쇄골상부에 몇개의 종괴들이 만져졌다. 조직검사상에서는 크고 수포성이거나 또는 진하게 염색되는 핵을 가지고 있고 풍부한 호산성의 세포질을 갖고 있으면서 비정상적인 핵분열이 많은 종양세포들이 집단을 이루고 있었다. 그래서 우선 전이성상피암과 흑색종의 감별이 어려웠고 PAS와 alcian-blue 특수염색을 시행하였더니 일부의 종양세포들이 양성으로 나타났고 EMA와 CEA가 모두 양성으로 나와서 전이성상피암으로 진단하였으나 위장관계와 폐등 다른 원발성 병소를 찾기 어려웠다. 그후 환자는 흉벽에 침윤되는 종양이 있어 수술을 받은 결과 같은 조직학적 소견을 보였다. 결국 임상적으로 남자의 유방에 생긴 선암으로 진단하였다(Fig. 5).

### 3) 상피종과 육종의 감별이 어려웠던 경우 (Table 3)

(1) 1번째 : 환자는 55세 남자였고 조직생검상 종양은 횡문근아세포(rhabdomyoblast)처럼 보이는 다형성의 큰세포(pleomorphic large cell)들로 구성되어 있었다. 따라서 전이성 거대세포상피암(metastatic giant cell carcinoma)과 육종의 가능성을 생각했었는데, PAS와 Fontana-Masson 특수염색에 모두 음성이었으나 EMA에 양성이고 CEA에 약한 양성을 보여 육종의 가능성을 배제하였다. 후에 검사한 X선촬영상에 종괴가 있어 폐원발성의 거대세포암으로 생각되었다.

(2) 2번째 : 환자는 69세 여자로서 상악동(maxillary sinus)에 종괴가 있었으며 조직검사상 종양은 방추형 세포(spindle cell)로 구성되어 있었고 심한 다형성을 보이는 큰 종양세포들 사이에는 임파구, 형질세포(plasma cell), 중성구와 호산구같은 여러종류의 염증세포가 섞여져 있어 육종중에서 악성섬유성 조직구종(malignant fibrous histiocytoma)의 가능성을 먼저

Table 3. Reactions with 3 tumor specific antigens in differential diagnosis of carcinoma and sarcoma

| Case No. | Age | Sex | Pathologic Diagnosis                                 | Immunoperoxidase stain |     |     | Final Diagnosis                                     |
|----------|-----|-----|--|------------------------|-----|-----|---|
|          |     |     |  | EMA                    | CEA | LCA |   |
| 1        | 55  | M   | metastatic giant cell ca, supraclavicular lymph node | +                      | -   | ND  | metastatic ca. from lung supraclavicular lymph node |
| 2        | 69  | F   | malignant fibrous histiocytoma maxillary sinus       | -                      | -   | ND  | malignant fibrous histiocytoma maxillary sinus      |

ND: Not done

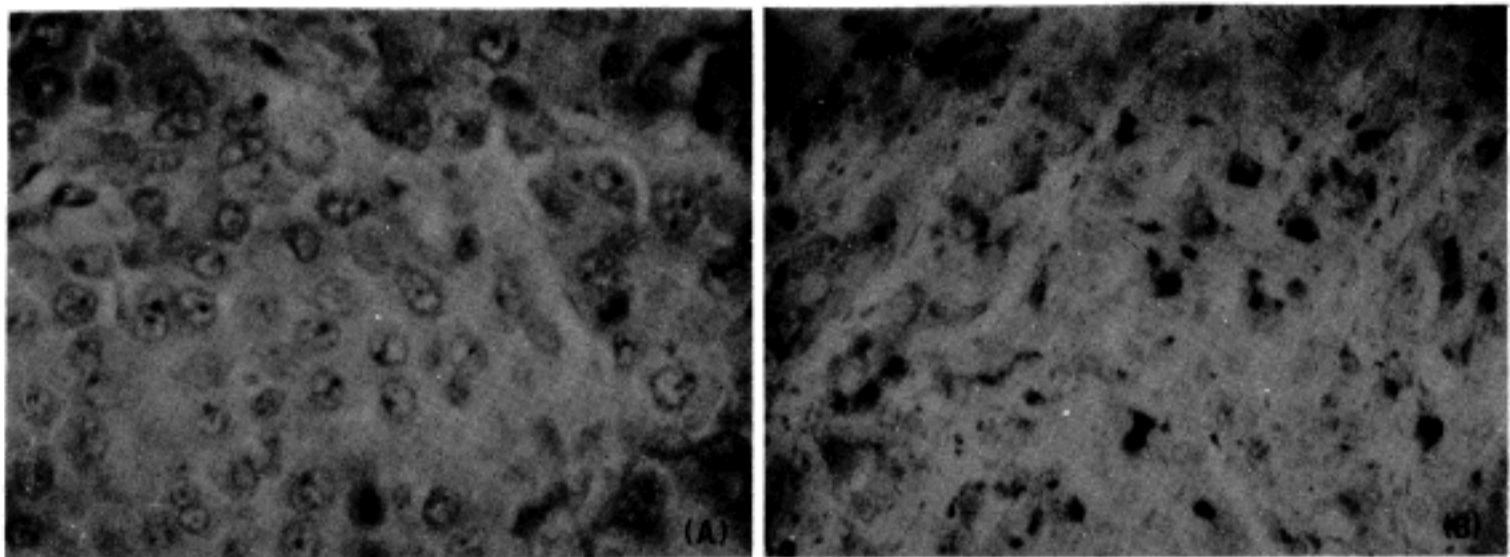


Fig. 5. Metastatic adenocarcinoma in pericardium.

- A) The tumor cells have large vesicular nuclei, single prominent nucleoli and abundant acidophilic cytoplasm reminiscent of mesothelioma. (H&E stain,  $\times 250$ )  
 B) The stains for EMA (B-1) and CEA(B-2) showing cytoplasmic positivity of tumor cell nests. The stainability is less intensive in CEA. (Immunoperoxidase stain,  $\times 250$ )

생각했었으나 이 부위에서는 악성섬유성 조직구종보다는 편평상피암의 빈도가 훨씬 높다는 점에서 방추형편평상피암의 가능성을 배제하기 위해서 EMA와 CEA를 시행한 결과 모두 음성반응을 보임으로써 편평상피암의 가능성을 배제할 수 있었다.

#### 4) 기타(Table 4)

(1) 1번째 : 환자는 56세 남자로 15일정도 지속된 식후동통과 소화불량이 있었고 양쪽 쇄골상부임파절이 커져 있었다. 조직검사소견상 종양은 수포성의 핵과 한 개 정도의 뚜렷한 핵소체를 갖고 있는 다각형의 종양세포들로 구성되어 있었다. 진단과정에서 우선 전이성상피암으로 생각했었고 원발부위는 간이 아닌가 생각했었으나 PAS에 양성이고 D-PAS에 양성이며 mucicarmine에 양성이었다. 그리고 EMA와 CEA에 모두 양성이어서 간에서 원발했을 가능성은 배제할 수 있었다.

(2) 2번째 : 환자는 53세 남자로 진단당시 3개월 전부터 상복부동통과 다발성 임파절비대를 호소하였다. 임파절에서 시행한 조직검사표본상 종양은 둥글거나 타원형의 종양세포들이 전반적으로 침윤되어 있어서 전이성상피암을 생각했었고 1황지 정도의 간비대 때문에 원발부위는 간을 생각했으나 EMA와 CEA에서 모두 양성으로 나와서 간암의 가능성을 배제할 수 있었다. 후에 시행한 간주사검사(liver scanning)상 정상이었고, 복강경검사상 위 장막에 종양세포의 침윤이 있어서 위암의 가능성이 가장 높았다.

(3) 3번째 : 환자는 32세 남자로 악성심낭삼출(malignant pericardial effusion)과 쇄골상부임파절비대를 호소하여 심낭을 제거하여 생검하였다. 심낭은 여러 곳에서 둥글고 큰 세포들이 군집 또는 유두상(papilla)을 이루고 있었다. 핵은 크고 뚜렷한 핵소체를 갖고 있었다. 종피종(mesothelioma)으로 진단하였고 후에 임파절생검을 시행하여 전이성암으로 진단받고 방사선

Table 4. Reactions with 3 tumor specific antigens in differential diagnosis of miscellaneous different tumors

| Case No. | Age | Sex | Pathologic diagnosis                               | Immunoperoxidase stain |     |     | Final diagnosis  |
|----------|-----|-----|--|------------------------|-----|-----|--|
|          |     |     |  | EMA                    | CEA | LCA |  |
| 1        | 56  | M   | metastatic adenoca. from liver cervical lymph node | +                      | +   | ND  | pancreatic head ca. cervical lymph node                              |
| 2        | 53  | M   | metastatic adenoca. from liver cervical lymph node | +                      | +   | ND  | metastatic adenoca. excluding hepatocellular ca. cervical lymph node |
| 3        | 32  | M   | mesothelioma pericardium                           | +                      | +   | ND  | metastatic adenoca. pericardium                                      |
| 4        | 37  | F   | squamous cell ca. vulva                            | -                      | -   | ND  | chorioca. (?) vulva  |
| 5        | 36  | M   | Ewing's sarcoma thigh                              | -                      | -   | -   | Ewing's sarcoma thigh  |

ND: Not done

치료 도중 사망하였다. 그러나 EMA 염색과 CEA 염색에 모두 강한 양성을 보여 대부분의 종괴종에서 CEA가 음성 또는 약한 양성반응을 보인다는 점에서 종괴종보다는 전이성선암으로 진단함이 타당하다고 사료되었다.

(4) 4번째 : 환자는 37세 여자로서 오른쪽 외음부(perineum)에 종괴가 만져졌었다. 조직검사상 종양은 진기하고 진하게 염색되면서(dark hyperchromatic) 몇 개의 뚜렷한 핵소체를 갖고있는 퇴화된(anaplastic) 세포들로 구성되어 있었고 피사를 동반하고 있어 편평상피암과 융모상피암(choriocarcinoma)의 가능성을 생각했었는데 세포영양세포(cytotrophoblast)와 합포제 영양세포(syncytiotrophoblast)의 구별이 뚜렷하지 않아서 편평상피암으로 진단하였으나 EMA와 CEA에서 모두 음성반응을 보여서 융모상피암의 가능성이 더 높은 것으로 생각된다. 그후 환자의 추적에 어려워 확진하기는 어려웠다.

(5) 5번째 : 환자는 36세로서 대퇴골부위의 종괴를 주소로 생검을 하였다. 종양은 연부조직(soft tissue)과 뼈를 같이 침범하여 악성임파종과 Ewing씨 종양을 생각하였다. 그러나 Ewing씨 종양으로는 연형이 많은 것같이 임파종과 감별을 위해 LCA를 시행한 결과 음성으로 이를 배제할 수 있었고 또한 PAS에 양성이나 D-PAS에 음성반응을 보여 Ewing씨 종양의 진단을 할 수 있었다.

## 고 찰

원발성 또는 전이성암의 감별진단은 오랜동안 외과

병리의사들에게 어려운 문제로 되어왔고 특히 최근에는 방사선치료 및 화학요법의 발전으로 정확한 조직학적 진단은 환자치료에 필수적인 사항으로 되어 왔다. 가장 혼히는 조직화학염색이 이용되어왔으나 이로써는 해결되기 어려운 점등이 있고, 전자현미경적 검사가 이용되기는 하나 고가의 장비와 시간의 소모등으로 우리나라에서는 쉽게 외과병리분야에 이용되지 못하고 있다. 다행히 최근에는 비교적 가격이 저렴하고 쉽게 모든 사람이 이용할 수 있으며 더욱이 파라핀 포매된 조직에서도 적용할 수 있는 면역조직화학염색 방법이 개발되어 여러 목적으로 이용되고 있다. 특히 본 연구에서 이용된 세가지 항체중 EMA와 LCA는 쥐에서 만들어진 monoclonal antibody로서 흔히 동결결편에서 이용되어져야 한다는 종배의 항체와 달리 파라핀 포매조직에서도 염색이 가능하다는 점은 외과병리 진단에서 이용되기 좋은 장점이라 하겠다. EMA는 1977년 Ceriani<sup>20)</sup>의 연구로 지방을 제거한 인유에 대한 항체가 특이하게 유방상피와 반응한다는 사실을 알아낸 후 Heyderman 등<sup>21)</sup>, Sloane 등<sup>22)</sup>, Gatter 등<sup>23)</sup>이 종양 진단에서의 가치에 대해 연구하였다. 이 항원은 정상적으로 간세포, 신 근위부 관(kidney proximal tubule)과 전립선을 제외한 거의 모든 선세포에서 출현한다고 하고, 방광의 이행상피, 피부의 피지선, 폐의 포상세포(alveolar cell) 및 중피세포(mesothelial cell)에서도 양성반응을 보이는 반면 여러 종류의 내분비세포, 임파·조혈계 세포, 신경계 세포, 배세포(blast cell) 및 모든 중배엽성조직등이 음성반응을 보인다고 한다.

이들은 정상인 경우 내면상피와 표면에서만 양성으로 나타나지만 염증이거나 암종에서는 그 염색정도나 출현장소가 달라지게 된다. 여러 종양에서의 염색양상에 대한 연구를 보면 대부분 정상조직에서와 같은 소견을 보이나 몇가지 차이가 있는데, 첫째로 정상조직에서 보다 더 많은 양이 나타나며 세포질에서도 출현하고 특히 편평상피암에서도 양성반응을 보인다. 분화가 좋은 경우 일정하게 강한 반응을 보이나 분화가 나쁠수록 염색도가 일정치 않다.

둘째로는, 육종의 양상을 보이는 경우의 암종에서도 세포질 출현이 관찰되어 진단에 도움이 되며 흔히 단일세포로 전이될 때 세포질의 강한 염색으로 전이암식별을 용이케 한다는 점이다. 이 항원은 포르말린고정과 파라핀포매 후 연은 절편에도 적용할 수 있다는 점과 대개는 분화가 좋은 경우에 더 잘 검출되지만 분화가 나쁜 종양들에서도 검출해 낼 수 있다는 점에서 종양의 진단에 있어서 상피성분화여부를 결정하는 도구로 사용될 수 있다. 특히 분화되지 않은 대세포성 상피암(undifferentiated large cell carcinoma)과 대세포성 악성림파종(large cell lymphoma)의 감별, 소세포 퇴행성상피암(small cell anaplastic carcinoma)과 소세포 악성림파종(small cell lymphoma)과의 감별에 유용한 것으로 되어있고, EMA 검출반응이 양성인 경우에는 간세포암, 멜라닌색소를 함유하지 않는 흑색종과 배아세포종의 가능성을 배제할 수 있다. 또한 육종성 변화를 보이는 상피세포암의 진단에도 유용하다. 본 연구의 실험대상중 분화되지 않은 상피암과 악성림파종의 감별이 어려웠던 6례중 4례에서 양성으로 나와서 상피성암으로 진단할 수 있었고, 전이성 간세포암으로 생각했던 2례 모두에서 양성반응을 보임으로써 전이성 간암의 가능성을 배제할 수 있었으며, 전이성 상피암과 흑색종의 감별이 어려웠던 2례 모두에서 양성반응을 보임으로써 전이성상피암으로 확진하는데 큰 도움이 되었다. 또한 편평상피암과 용모성 상피암의 감별이 어려웠던 1례에서는 음성반응을 보여 편평상피암의 가능성을 배제할 수 있었고, 상피암과 육종의 감별이 어려웠던 2례중 1례에서는 양성이었다고 다른 1례에서는 음성으로 나와서 상피암과 육종으로 각각 확진하였다.

본 연구에서 사용된 CEA는 1965년 Gold와 Freedman<sup>20)</sup>이 처음 대장암과 초기 및 중기의 정상태아의 대장에서 존재하는 당단백(glyco-protein)이라 하여 CEA라 명명한 이래 많은 사람들에 의해서 연구되어 왔던 종양특이항원(tumor specific antigen)의 하나이

다<sup>4-9)</sup>. 이것은 정상 위·장상피·편도선의 상피와 위·장·유방·폐·난소·췌장등의 선암, 피부·자궁경부·기관지의 편평상피암과 방광의 이행상피암에서 검출될 수 있고<sup>3-14)</sup>, 정상피부·뇌피질·유방·폐·간·담관·사구체·신관(kidney tubule)·심호선·고환·갑상선·편도선의 임파조직·임파절과 간암·신장암, 식도·후두의 편평상피암, 갑상선암과 육종·임파종·생식세포암·신경모세포종(neuroblastoma)·Ewing씨 종양에서는 검출되지 않는 것으로 되어있다. 이 항원은 EMA와 마찬가지로 포르말린 고정된 조직에 적용할 수 있고 상피성종양과 임파종을 감별하는데 유용하므로 적용시킬 수 있는 대상은 대개 EMA에서와 비슷하며, 상피암과 임파종의 구별이 힘든 경우 중에서 EMA가 검출되지 않았을때 상피암의 확진에 도움을 줄 수 있고 EMA보다는 소수의 정상 상피조직에 분포되어 있기 때문에 전이성상피암인 경우 원발부위를 어느 정도 짐작할 수 있다는 장점이 있다<sup>1)</sup>. 본 연구에서는 분화되지 않은 상피성암과 악성림파종의 감별이 어려웠던 6례중 EMA에 음성반응을 보였던 1례에서 양성반응을 보임으로써 상피암으로 진단하는데 도움을 줄 수 있었다. 상피세포에서 발생한 종양에서 EMA와 CEA가 모두 양성인 경우는 10례중 5례였고, 소세포 상피암과 대세포상피암을 생각했던 2례에서 EMA가 양성이고 CEA가 음성인 반면 평활근아세포종(leiomyoblastoma)으로 생각했던 1례에서는 EMA가 음성이고 CEA가 양성이어서 두 가지를 모두 이용하는 것이 상피암을 진단하는데 필요할 것으로 생각되었다. 1례의 증피종을 의심했던 1례에서는 EMA와 CEA가 모두 강하게 양성반응을 보였는데 증피종일때는 CEA가 약한 양성반응을 보이는 것으로 되어 있어서<sup>21)</sup> 이 경우에 있어서 증피종보다는 전이성상피암으로 생각되었다.

림파종을 다른 암종에서 구별하기 위해 사용한 LCA는 약 200,000달톤 정도의 분자량을 갖고 1980년 Omary 등<sup>22)</sup>이 기술한 monoclonal antibody로써 쥐의 T 200 당단백과 동일한 것이다. 이는 형질세포를 제외한 대부분의 백혈구표면에 존재한다. Battifora와 Trowbridge<sup>23)</sup>, Andres와 Kadin<sup>24)</sup> 및 Borowitz<sup>17)</sup>와 Gatter 등의 연구에 의하면 모든 림파종에서 이 항원이 출현하나 다른 암종이나 육종에서는 음성이었다고 한다. 따라서 미분화종양에서 림파종과의 감별진단에 진단적 가치가 있는데 특히 내시경이나 침생검에 의해 얻어진 작은 조직에서 형태학적으로 감별이 불가능한 경우에 앞에 기술한 EMA와 함께 사용시 매우 유용하다.

림파종의 대부분은 또한 Ia 항원을 표현하는 것으로



되어 있으나 Ia 항원은 악성흑색종에서 출현할 수 있거나 많은 T세포와 간혹 B 세포에서 출현하지 않을 수도 있기 때문에 LCA는 모든 임파종의 표식자(marker)로써 이용되어 질 수 있다<sup>17,25</sup>. 또 다른 장점은 고정과 포매과정 후에도 존재하여 파라핀포매조직에서도 검출이 가능하다는 장점을 갖고 있다. 본 연구에서도 악성임파종과 분화되지 않은 상피암과의 감별이 어려웠던 6례중 1례에서 항원이 검출됨으로써 진단에 결정적인 도움을 받을 수 있었고 Ewing씨 종양으로 생각했으나 악성임파종의 가능성을 배제하기 어려웠던 1례에서 음성으로 나와서 Ewing씨 종양의 진단에 도움이 되었다. 이상에서와 같이 종양의 감별진단에서 이들 세 항원의 면역조직화학적 이용은 외과병리분야에서 널리 이용되어질 수 있는 진단적 가치를 갖고 있다고 사료된다.

### 결 론

1983년에서 1985년 사이에 정확한 감별진단이 어려웠던 15례의 악성종양에서 EMA, CEA 및 LCA를 면역조직화학적염색으로 파라핀포매조직에 시행한 결과 다음과 같이 진단에 도움을 주는 결과를 얻었다.

1) EMA 염색은 상피성암과 악성임파종의 감별이 어려웠던 6례중 4례에서 상피성암으로 진단할 수 있었고 전이성 간세포암과 악성흑색종으로 생각했던 각각 2례에서 그 가능성을 배제하고 전이성상피암으로 확진하는데 도움을 주었다. 또한 편평상피암과 용모상피암의 감별이 어려웠던 1례에서 EMA가 음성이어서 편평상피암의 가능성을 배제하였고, 상피암과 육종의 감별이 어려웠던 2례에서 1례는 EMA가 양성, 다른 1례는 EMA가 음성으로 나와서 각각 상피암과 육종으로 진단하였다.

2) CEA는 EMA와 같은 진단적 가치를 갖고 EMA가 음성이었고 CEA가 양성이었던 상피성암 1례에서 감별진단에 도움을 주었다.

3) LCA는 1례의 악성임파종에서 상피성암과의 감별에 도움이 되었고, 악성임파종과 감별이 필요한 Ewing씨 종양 1례에서 진단에 도움을 주었다.

### REFERENCES

1) Sloane JP, MRCPATH MB, Ormerod MG: *Distribution of epithelial membrane antigen in normal and neoplastic tissue and its diagnostic*

*tumor pathology. Cancer 47:1786, 1981*

- 2) Heyderman E, Steele K, Ormerod MG: *A new antigen on the epithelial membrane: its immunoperoxidase localization in normal and neoplastic tissues. J Clin Pathol 32:35, 1979*
- 3) Gatter KC, Abdulaziz Z, Beverley P, Corvalan JRF, Ford C, Lane EB, Mota M, Nash JRG, Pueford K, Stien H, Taylor-Papadimitriou J, Woodhouse C, Mason DY: *The use of monoclonal antibodies for the histopathological diagnosis of human malignancy. J Clin Pathol 35:1253, 1982*
- 4) Pascal RR, Mesa-Tejada R, Bennet SJ, Garces A, Fenoglio CM: *Carcinoembryonic antigen. Arch Pathol Lab Med 101:568, 1977*
- 5) Goldenberg DM, Sharkey RM, Primus FJ: *Carcinoembryonic antigen in histopathology: immunoperoxidase staining of conventional tissue sections. J Natl Cancer Inst 57:11, 1976*
- 6) Reynoso G, Chu TM, Holyoke D, Cohen E, Wang JJ, Chuang J, Guinan P, Murphy GP: *Carcinoembryonic antigen in patients with different cancers. JAMA 220:361, 1972*
- 7) Gold P, Gold M, Freedman SO: *Cellular location of carcinoembryonic antigen of the human digestive system. Cancer Res 28:1331, 1968*
- 8) Huitric E, Laumonier R, Burtin P, von Kleister S, Chavanel G: *An optical and ultrastructural study of the localization of CEA in normal and cancerous human rectocolonic mucosa. Lab Invest 34:97, 1976*
- 9) Gold P, Freedman SO: *Specific carcinoembryonic antigen of the human digestive system. J Exp Med 122:467, 1965*
- 10) Walker RA: *Demonstration of carcinoembryonic antigen in human breastcarcinomas by the immunoperoxidase technique. J Clin Pathol 33:356, 1980*
- 11) Concanmon JP, Dalbow MH, Liebler GA, Blake KE, Weil GS, Cooper JW: *The CEA assay in bronchogenic carcinoma. Cancer 34:184, 1974*
- 12) Vincent RG, Chu TM, Fergen TB, Ostrander

- M: *Carcinoembryonic antigen in 228 patients with carcinoma of the lung. Cancer* 36:2069, 1975
- 13) Marchand A, Fenoglio CM, Pascal R, Richart M, Bennett S: *Carcinoembryonic antigen in ovarian neoplasms. Cancer Res* 35:3807, 1965
- 14) Heyderman E, Neville MA: *A shorter immunoperoxidase technique for the demonstration of carcinoembryonic antigen and other cell products. J Clin Pathol* 30:138, 1977
- 15) Darcy CA, Turberville C, James R: *Immunological study of carcinoembryonic antigen and a related glycoprotein. Br J Cancer* 28:147, 1973
- 16) Zamcheck N: *The present status of CEA in diagnosis, prognosis and evaluation of therapy. Cancer* 36:2460, 1975
- 17) Borowitz MJ, Stevanovic G, Gottfried M: *Differential diagnosis of undifferentiated malignant tumors with monoclonal antibody T 29/33. Human Pathol* 15:928, 1984
- 18) Halper JP, Knoeles DM II, Wang CY: *Ia-antigen expression by human malignant lymphomas: Correlation with conventional lymphoid markers. Blood* 55:373, 1980
- 19) Kadin ME: *Ia-like (HLA-DR) antigens in the diagnosis of lymphoma and undifferentiated tumors. Arch Pathol Lab Med* 104:503, 1980
- 20) Ceriani R, Thompson K, Peterson JA, Abraham S: *Surface differentiation antigens of human mammary epithelial cells carried on the human milk fat globule. Proc N Acad Sc USA* 74:582, 1977
- 21) Corson JM, Pinkus GS: *Mesothelioma profile of keratin proteins and carcinoembryonic antigens: An immunoperoxidase study of 20 cases and comparison with pulmonary adenocarcinomas. Am J Pathol* 108:80, 1982
- 22) Omary MB, Trowbridge IS, Battifora HA: *Human homologue of murine T 200 glycoprotein. J Exp Med* 152:842, 1980
- 23) Battifora H, Trowbridge BA: *A monoclonal antibody useful for the differential diagnosis between malignant lymphoma and non-hematopoietic neoplasms. Cancer* 51:816, 1983
- 24) Andres L, Kadin E: *Immunologic markers in the differential diagnosis of small round cell tumors from lymphocytic lymphoma and leukemia. Am J Clin Pathol* 79:546, 1983
- 25) Gatter KC, Alcock C, Heryet A, Pulford KA, Heyderman E, Taylor Papadimitriou J, Stein H, Mason DY: *The differential diagnosis of routinely processed anaplastic tumors using monoclonal antibodies. Am J Clin Pathol* 82:33, 1984
- 26) Janossy G, Thomas JA, Pizzolo Z, Granger SM, MaLaughlin J, Habeshaw JA, Stanfeld AG, Sloane J: *Immunohistological diagnosis of lymphoproliferative diseases by selected combinations of antisera and monoclonal antibodies. Br J Cancer* 42:224, 1980

= Absrtact =

### Clinical Application of EMA, CEA and LCA in Differential Diagnosis of Tumors

Mee Ja Park, M.D., Insun Kim, M.D.  
and Seung Yong Paik, M.D.

Department of Clinical Pathology, College of Medicine, Korea University

To determine the therapeutic plan and to predict the prognosis, it is a pivotal and important task to differentiate the exact nature of the various undifferentiated neoplasms. In order to solve this problem, the electron microscopy has once been considered only method in certain cases. Recently, however, the immunoperoxidase staining method which is less expensive and easier to use than electron microscopy has been developed and introduced.

To evaluate the diagnostic value of epithelial membrane antigen(EMA), carcinoembryonic antigen(CEA) and leukocyte common antigen(LCA) immunoperoxidase method, the authors applied these

staining in 15 cases of which exact diagnoses were difficult with conventional routine and special stains, using the formalin-fixed and paraffin-embedded tissue sections.

The results are as follows:

1) EMA was helpful in confirming the diagnosis or revising to the proper diagnosis of undifferentiated carcinoma in 4 of 6 cases and in excluding the possibility of hepatocellular carcinoma and melanoma in 2 cases, respectively. The negative stainabilities in one case of choriocarcinoma and one case of malignant fibrous histiocyoma was useful to exclude the possibility of squamous cell

carcinoma and the positive stainability in one case of giant cell carcinoma to exclude the possibility of sarcoma.

2) The diagnostic value of CEA was similar to that of EMA; CEA was useful to differentiate from malignant lymphoma in one case of epithelial tumor in which CEA was positive and EMA negative.

3) LCA was useful to differentiate one case of malignant lymphoma from undifferentiated carcinoma and to confirm Ewing's sarcoma from malignant lymphoma in one case.