

# Human Chorionic gonadotropin (HCG), Human Placental 및 lactogen(HPL) Pregnancy specific beta-1 glycoprotein (Sp-1) 의 조직내 분포에 관한 면역조직화학적 연구

전북대학교 의과대학 병리학교실

이 순 · 박상수 · 최삼임 · 김상호

## 서 론

Human chorionic gonadotropin(HCG), human placental lactogen(HPL) 및 human pregnancy specific beta-1 glycoprotein(SP-1)은 인간 태반의 영양아세포(trophoblast)에서 생성되고 분비되는 polypeptide hormone으로서 특이항체와 fluorescein을 사용한 면역 조직화학적 방법이나<sup>1-4</sup> peroxidase를 marker로 사용하여 검출할 수 있다<sup>5</sup>.

HCG는 정상 및 악성 영양아세포에 의해 생성되어 합포체성 영양아세포(syncytiotrophoblast)의 세포질내에 존재한다고 하며<sup>2-4, 6-8</sup> 이를 광학<sup>5, 9, 10</sup> 및 전자현미경으로 관찰한<sup>11-14</sup> 보고를 접할 수 있다.

그러나 Rosen등<sup>15</sup>은 HCG가 영양아세포 유래의 종양뿐만아니라 폐, 난소, 소화기계, 고환에서 유래한 각종 암종 및 임파종, 악성흑색종 등에서도 발견된다고 하였으며, Scardino등<sup>16</sup>은 고환의 germ cell tumor에서는 상당한 예에서 HCG가 생성됨을 증명하고 이를 종양의 staging과 예후를 판정하는 지표로 삼았다.

HPL은 1962년 Josimovich와 McLaren<sup>17</sup>에 의해 발견된 영양아세포 유래의 hormone으로서 뇌하수체 전엽의 성장 hormone과 매우 유사한 면역학적 및 생물학적 성상을 가지고 있어 이를 human chorionic somatomammotropin이라 명명하기도 하였다<sup>18</sup>. HPL은 정상적으로 임신부의 혈청내에서 발견되며 임신의 진행에 따라 점차 그 치가 증가되기 때문에<sup>19-21</sup>

이를 placental insufficiency의 지표로 사용하기도 한다<sup>22</sup>. 그러나 HPL 역시 정상 영양아세포 뿐만아니라 종양성 영양아세포에서도 생성되며 적절한 화학요법을 시행하면 혈청내 HPL치가 감소된다하여 영양아세포 유래의 종양의 치료 후 예후 판정에 사용될 수 있는 hormone임을 시사하였다. 그러나 근래에는 HPL이 영양아세포 기원종양 외에 폐암, 임파종이나 백혈병, pheochromocytoma, carcinoid, 위암, 갑상선암, 신장암 등에서도 발견됨이 보고되었다<sup>15</sup>.

SP-1은 임신부에만 특이하게 나타나는 임신 특이 당단백질로서 임신이 지속됨에 따라 점차 그 양이 증가하여<sup>23, 24</sup>, 사산, 임신중독증등 비정상적인 증가를 보이므로 fetal well-being을 나타낼 수 있는 물질로 알려져 왔으나<sup>24-26</sup> 근래에는 임신과 무관한 종양이나 질환을 가진 환자의 혈청중에서도 증가되고<sup>24, 26-30</sup>, 정상인에서도 미량이나마 존재할 수 있음이 밝혀졌다<sup>31, 32</sup>. 또한 Park등<sup>33</sup>은 각종 악성 종양의 수술 전후의 혈청내 SP-1 치를 비교한 결과 수술 전에는 유의한 증가치를 보인예가 62%인데 비해 수술 후에 12%로 감소되어, 악성종양 치료 후 예후 판정의 지표로 사용될 수 있음을 시사하였다.

이와같이 각종 종양의 지표로 사용되는 HCG, HPL 및 SP-1의 조직내 존재부위를 관찰하고자 저자는 불완전 유산(incomplete abortion), 자궁외 임신(ectopic pregnancy), 포상기태(hydatidiform mole) 등 임신에 관련된 병변과 난소, 고환의 germ cell tumor 등의 paraffin 절편에 peroxidase-antiperoxidase 방법으로 HCG, HPL 및 SP-1에 대한 염색을 시행 관찰하여 유의한 결과들

\*1985. 9. 20. 병리학회 월례집담회에서 발표하였음.

얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1) 재 료

불완전 유산 (incomplete abortion) 5예, 자궁의 임신(ectopic pregnancy) 5예, 포상기태 3예, 융모암(choriocarcinoma) 2예, 난소의 미분화 세포암(dysgerminoma) 2예, endodermal sinus tumor 1예를 대상으로 하였으며 각 조직의 paraffin절편에 대해 peroxidase-antiperoxidase법에 대한 면역 조직화학적 염색은 DAKO PAP KIT(DAKO CO, CA, U. S. A.)를 사용하였다.

### 2) 방 법

Paraffin 절편상에서 통상법에 의한 hematoxylin-eosin(H & E) 염색을 실시하고, HCG, HPL 및 SP-1의 검출은 Sternberger 등<sup>14)</sup>의 방법에 의하였으며 그 원리 및 방법은 다음과 같다. 즉, paraffin에 포매된 조직을 3~5 μm 두께로 박절하여 탈paraffin을 시킨 다음 제1 단계로 조직 세포나 혈구 세포내의 endogenous peroxidase활성을 제거하기 위해 3% 과산화수소의 methanol 용액에 30분간 처리한 후 수세하였다.

제2 단계는 관찰코자 하는 항원(HCG, HPL, SP-1)을 포함하고 있지 않은 조직과의 비특이적인 반응을 억제시키기 위해 정상 돼지 혈청(1:20)으로 20분간 처리하였다. 제3 단계에서는 "primary antibody" 즉 HCG, HPL 및 SP-1에 대한 항체를 조직내 항원(HCG, HPL, SP-1)과 20분간 반응시키는데 이때 사용되는 primary antibody는 rabbit로부터 얻은 것이며, 결합되지 않은 여분의 primary antibody를 제거하기 위해 tris buffer(0.05M, PH 7.6)로 20분간 수세하였다.

제4 단계는 link antibody 즉, swine antirabbit antibody(SWAR)를 조직이 충분히 덮히도록 슬라이드 위에 부어 20분 동안 반응시킴으로서 link antibody가 primary antibody와 특이적으로 반응하게 된다. 20분간 수세후 제5 단계로 PAP reagent와 20분간 반응시키면 link antibody의 binding sites 중 primary antibody와 결합되지 않은 여분의 PAP reagent를 제거한 후 제6 단계로서 peroxidase의 기질 용액인 DAB(0.06%, 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride, 0.03% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in tris-saline buffer) 용액을 가하면 DAB가 과산화수소에 의해 산화되어 항원(HCG, HPL, SP-1)이 존재하는 부위에 적갈색의 침전을 형성하게 된다. 염색이 완료되면

**Table 1.** Immunocytochemical stains for HCG, HPL, and SP-1 in non-neoplastic and neoplastic gestational status, and tumors of the ovary and testis

Various condition	Hormones	HCG*	HPL**	SP-1***
Gestational status				
Incomplete abortion		++, +++	++, +++	++, +++
Ectopic pregnancy		++, +++	++, +++	++, +++
Hydatidiform mole		+++	+++	+++
Choriocarcinoma		+++	+++	+++
Ovary tumors				
Dysgerminoma		-	-	-
Immature teratoma		-	-	-
Testis tumor				
Seminoma		-	-	-
Endodermal sinus tumor		-	-	-

\* : Human chorionic gonadotropin

\*\* : Human placental lactogen

\*\*\* : Human pregnancy specific beta-1 glycoprotein

Positivity describes staining intensity of cellular cytoplasm.

**Table 2.** Cellular localization of human chorionic gonadotropin(HCG) in non-neoplastic and neoplastic gestational status by means of immunocytochemical staining

Gest. status	Cells	Syncytio-trophoblast	Cyto-trophoblast	Villous stromal cell
Incomplete abortion		++, +++	-	-
Ectopic pregnancy		++, +++	-	-
Hydatidiform mole		+++	-	-
Choriocarcinoma		++++	±	-

Positivity describes staining intensity of cytoplasm.

수세 후 Mayer's hematoxylin으로 대조염색을 시행하고 alcohol을 통과시킨 후 liquid glycerol gelatin으로 mount하였다. 양성 및 음성 대조는 kit내의 대조 슬라이드를 사용하여 비교하였고, 염색표본은 반응 정도에 따라 음성(-)과 양성(±~#)으로 구분, 관찰하였다.

### 실 험 성 적

각종 실험조직에 대한 HCG, HPL 및 SP-1 염색소견은 다음과 같다.

#### 1) HCG (human chorionic gonadotropin)

HCG에 대한 염색소견은 table 1 및 2에서와 같다. 즉, 불완전 유산과 자궁의 임신 조직의 융모막 융모(chorionic villi)의 상피세포, 포상기태의 수포성 융모의 상피세포 및 융모암의 악성 영양 아세포 등에서는 중등도 내지 강한 양성 반응을 보였으나 난소의 미분화 세포종, 미성숙 기형종, 고환의 정상피종, endodermal sinus tumor 전례에서 종양세포내에 양성반응을 볼 수 없었다.

또한 양성반응을 보인 세포는 불완전 유산 및 자궁외 임신 전례에서 융모막 융모의 외층 상피세포

인 합포체성 영양아세포의 세포질내에서는 중등도 내지 강한 양성반응을 보였으나 세포 영양아세포(cytotrophoblast)나 융모간질세포(Villous stromal cell)에서는 양성반응이 인정되지 않았다. 포상기태 조직에서도 역시 수포성 융모의 증식된 영양아세포중 합포체성 영양아세포에서는 강한 양성반응을 볼 수 있었으나 세포 영양아세포(cytotrophoblast)에서는 음성반응을 보였다. 융모암 조직에서도 증식된 종양세포중 주로 합포체성 영양아세포에서 매우 강한 양성반응을 보였으며, 주위 피사된 부정형의 물질내에서도 양성반응을 인정할 수 있는 반면 증식된 세포영양아세포에서는 매우 경미한 양성 반응을 보였다.

#### 2) HPL (human Placental lactogen)

각 실험조직에서 HPL에 대한 염색소견은 table 1 및 3에서와 같다. 즉, HCG에 대한 염색소견과 대체로 유사한 불완전 유산 및 자궁의 임신 전례에서 융모막융모 상피세포, 포상기태의 수포성 융모의 상피세포에서는 중등도 내지 강한 양성반응을 보였으며, 융모암의 악성 영양아세포에서는 더욱 강한 양성반응을 보였으나 난소의 미분화 세포종, 미성숙 기형종, 고환의 정상피종, endodermal sinus tumor

**Table 3.** Cellular localization of human placental lactogen(HPL) in non-neoplastic and neoplastic gestational status by means of immunocytochemical staining

Gest. status	Cells	Syncytio-trophoblast	Cyto-trophoblast	Villous stromal cell
Incomplete abortion		++, +++	-	-
Ectopic pregnancy		++, +++	-	-
Hydatidiform mole		+++	-	-
Choriocarcinoma		+++	-	-

Positivity describes staining intensity of cellular cytoplasm.

**Table 4.** Cellular localization of human pregnancy specific beta-1 glycoprotein (SP-1) in non-neoplastic and neoplastic gestational status by means of immunocytochemical staining

Gest. status	Cells	Syncytio-trophoblast	Cyto-trophoblast	Villous stromal cell
Incomplete abortion		++, +++	—	—
Ectopic pregnancy		++, +++	—	—
Hydatidiform mole		+++	—	—
Choriocarcinoma		+++	—	—

Positivity describes staining intensity of cellular cytoplasm.

는 전례에서 종양세포내에 음성반응을 나타냈다. 양성반응의 조직내 부위는 불완전 유산과 자궁외 임신의 전례에서 옴모 상피세포중 합포체성 영양아세포의 세포질내였으며, 포상기태에서도 증식된 영양아 세포중 합포체성 영양아세포에서만 양성반응을 보였고, 옴모암에서는 악성합포체성 영양아세포에서 더욱 강한 세포질내 양성반응을 보였으나 세포 영양아세포에서는 양성반응을 보이지 않았다.

### 3) SP-1 (human pregnancy specific $\beta$ -1 glycoprotein)

SP-1에 대한 염색소견은 table 1 및 4에서와 같다. 즉, 불완전 유산과 자궁외 임신 조직의 상피세포, 포상기태의 수포성 옴모의 상피세포 및 옴모암의 악성 영양아세포 등에서는 중등도 내지 강한 양성반응을 보였으나 난소의 미분화세포종, 미성숙 기형종, 고환의 정상피종, endodermal sinus tumor 전례에서는 종양세포내에서 양성반응을 볼 수 없었다. 또한 양성반응을 보인 세포를 구분하여 보면 HCG나 HPL에서와 같이 불완전 유산 및 자궁외 임신 전례에서 옴모막 옴모의 외측 상피세포인 합포체성 영양아세포에서는 중등도 내지 강한 양성반응을 볼 수 있으나 세포 영양아세포나 옴모 간질세포에서는 양성반응을 관찰할 수 없었다. 포상기태 조직에서도 증식된 영양아세포중 합포체성 영양아세포에서만 강한 양성반응을 보였고, 옴모암 조직에서 역시 종양성 영양아세포중 합포체성 영양아세포의 세포질내에서는 강한 양성반응이 관찰되었으나 세포 영양아세포에서는 음성반응을 보였다.

## 고 찰

HCG는 50여년 전부터 인간 태반에 존재한다고 알

려졌으나<sup>35)</sup> 몇몇 연구자들<sup>36)</sup> 이 임신 초기 합포체 (syncitium)에 위치한다고 한 것을 제외하면 대부분 Langhan's Cell (cytotrophoblast, 세포 영양아 세포) 이 HCG를 생성한다고 하였다<sup>4,37)</sup>. 또 Thiede와 Choate<sup>3)</sup>는 HCG가 합포체성 영양아세포와 세포 영양아세포, 양 세포내에 공히 존재한다고 보고한 바 있으나, Mason 등<sup>38)</sup>은 peroxidase법을 사용하여 HCG가 임신 말기의 합포체에 있음을 보고하였고 de Ikonicoff와 Cedard<sup>5)</sup>는 이를 지지하였다. 이는 오늘날에도 대부분 받아들여지고 있는 견해이며 본 실험에서도 합포체성 영양아세포의 세포질내에서 면역조직화학적으로 이를 증명하였다.

HCG는 두개의 상이한 subunit, 즉,  $\alpha$ 와  $\beta$  subunit로 구성되어 있으며 적절한 조건하에서 subunit를 분리해 낼 수 있다.  $\alpha$ - 및  $\beta$ -Subunit는 서로 다른 화학적, 면역학적 및 생물학적 특성을 가지고 있으며 HCG의  $\beta$ -Subunit는 86개의 아미노산을 갖는다고 한다. 이러한 HCG가 주로 옴모막 옴모의 표층세포인 합포체성 영양아세포에만 존재하는 기전은 아직 확실치 않으나  $\beta$ -chain의 COOH-terminal end의 30 아미노산 sequence의 역할에 의한다는 가설이 있으며 이는 좀 더 추구해야 할 과제라 생각된다.

한편 HCG는 정상적인 태반의 옴모막옴모 뿐 아니라 포상기태나 옴모암 등의 종양성 영양아세포에서도 다량 분비되어 영양아세포 질환 환자의 혈청내에서 특히 그 치가 증가된다는 것은 주지의 사실이나 혈청내 HCG의 증가가 반드시 포상기태나 옴모암을 시사하는 것은 아니다. 왜냐하면 HCG가 gestational cancer뿐만 아니라 다른 조직에서 유래된 암종에서도 생성, 분비될 수 있기 때문이다. 즉, Rosen 등<sup>15)</sup>에 의하면 옴모암에서는 물론 100%에서 H-

CG의 증가를 보이지만 그 외에 소화기계 암, 고환이나 난소의 암, 폐암, 임파종, 악성 흑색종 등에서도 증가를 보인 예가 상당수 있다고 하며, Scardino 등<sup>16)</sup>은 고환의 germ cell tumor에서 HCG를 측정하여 암종의 staging과 예후 판정에 이용함을 보고하였다. 그러나 Kurman 등<sup>39)</sup>은 혈청내 HCG가 증가된 정상피종, 기형종, endodermal sinus tumor 및 embryonal carcinoma 등에서 조직내 HCG를 immunoperoxidase법에 의해 증명하여 HCG 양성 반응을 보인 종양세포들을 관찰하여 본 바 이들은 모두 syncytiotrophoblastic giant cell (합포체성 영양아세포 거대세포)이며 대부분의 종양세포에서는 음성반응을 보임을 밝혀 결국 HCG는 합포체성 영양아세포에서만 생성, 분비됨을 뒷받침해 주고 있다. 그러나 본 실험에 사용된 난소의 미분화세포종, 미성숙 기형종 및 고환의 정상피종, endodermal sinus tumor 조직 내에서는 syncytiotrophoblastic giant cell이 포함되어 있지 않았으므로 HCG 염색상 음성반응을 보임은 당연한 결과라 할 수 있다. 그러나 용모암에서 증식된 세포 영양아세포에서 일부 trace 정도의 반응을 볼 수 있음은 주위 합포체성 영양아세포에서 다량의 HCG를 생성하여 퍼사된 부정형 물질 및 세포 영양아세포로 일부 permeation된 결과가 아닌가 생각되나 이는 앞으로 밝혀야 할 과제이다.

Gau와 Chard<sup>40)</sup>에 의하면 HPL은 방사면역법으로 태반조직의 동결 절편내에서는 측정할 수 있으나 paraffin 절편에서는 측정이 불가능하다 하였는데 peroxidase reaction의 개발과 더불어 paraffin 절편에서도 이를 증명할 수 있게 되었으며, de Ikonoff와 Cedard<sup>5)</sup>가 HPL의 존재부위를 합포체성 영양아세포라 보고한 이래 이는 널리 받아들여지고 있으며, PAP법을 사용한 본 실험에서도 HPL이 합포체성 영양아세포에 국한되어 존재함을 알 수 있어 이들의 견해를 뒷받침해 주는 소견이라 하겠다. 또한 Gau와 Chard<sup>40, 41)</sup> 및 Watkins<sup>42)</sup>는 formalin에 고정된 조직에서 formalin작용에 의해 HPL의 항원성이 감소됨을 보고한 바 있으나 본 실험에서는 formalin에 고정된 조직을 더 진전된 특이항체의 사용과 paraffin block 제조시 적정온도 유지등으로 매우 선명한 염색상을 관찰할 수 있어 이들과는 다소 상이한 결과였다.

HPL 역시 대부분의 영양아세포 기원 종양 환자의 혈청에서 그 치가 증가되나 HCG에 비해서는 증가

폭이 작다고 한다<sup>43)</sup>. 따라서 혈청내 HPL/HCG ratio를 측정하여 정상적인 임신과 종양성 영양아세포 증식을 감별하는데 사용하는 바, 이 ratio가 낮으면 종양을 의미한다고 한다<sup>44)</sup>. 본 성적에서 용모암과 포상기태의 합포체성 영양아세포내에 강한 HPL 양성반응을 보임은 이 세포에서 HPL이 생성됨을 의미하지만 혈청내 HPL 농도와와의 관련성이 없으므로 이 소견만으로는 Saxena 등<sup>44)</sup>의 견해를 뒷받침하기는 어려운 실정이며, 이는 추후 더욱 연구해 볼 가치가 있다고 사료된다. 또한 Rosen 등<sup>15)</sup>은 영양아세포 기원이 아닌 다른 암종, 즉 폐암, 간암, 임파종 및 백혈병, pheochromocytoma, carcinoid, 위암, 갑상선암 및 신장암 등의 약 5%에서 혈청내 HPL치가 의의있게 증가된다고 하였으나 이의 정확한 기전 역시 더욱 연구할 필요가 있을 것으로 생각된다.

SP-1의 존재부위는 정확히 알려져 있지 않으나 본 실험 결과 HCG나 HPL과 같이 합포체성 영양아세포에서 양성반응을 보임을 알 수 있으며, 역시 영양아세포 기원의 종양에서는 증식된 합포체성 영양아세포에서 선택적으로 강한 양성을 보인 반면, 난소나 고환의 종양내에서는 음성반응을 보여 난소나 고환 종양의 구성세포중 합포체성 영양아세포가 존재치 않음을 알 수 있다.

Searle 등<sup>27)</sup>은 방사면역법으로 각종 종양 환자의 혈청내에서 SP-1의 농도를 측정하여 2  $\mu\text{g}/\text{l}$  이상을 유의한 증가치로 간주한 결과 악성 난소암의 12%, 악성유암의 22%, 대장 및 직장암의 42% 이상에서 의의있는 증가를 보였다고 보고하였으나 SP-1의 기원에 관한 보고는 찾아보기 어렵다. 본 실험에서 SP-1을 난소나 고환의 종양세포내에서 볼 수 없는 것은 SP-1 역시 HCG나 HPL과 같이 합포체성 영양아세포에 국한되어 생성, 분비되기 때문이라 사료되며, Searle 등<sup>27)</sup>이 보고한 각종 암에서의 혈청내 SP-1치 증가는 암세포에 의한 ectopic production으로 추측되나 이는 좀 더 연구해야 할 과제라 생각된다.

## 결 론

각종 악성종양의 지표로 사용될 수 있는 human chorionic gonadotropin(HCG), human placental lactogen(HPL) 및 human pregnancy specific  $\beta$ -1 glycoprotein(SP-1)의 조직내 존재부위를 관찰할 목

적으로 불완전 유산 5예, 자궁외 임신 5예, 포상기태 3예, 용모암 2예, 난소의 미분화세포종 2예, 미성숙 기형종 1예 및 고환의 정상피종 2예, endodermal sinus tumor 1예를 대상으로, 이들 조직의 paraffin절편에 peroxidase-antiperoxidase방법을 사용하여 HCG, HPL 및 SP-1에 대한 면역 조직화학적 염색을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) HCG, HPL 및 SP-1 공히 불완전 유산 및 자궁외 임신에서 용모암용모의 외층상피 세포인 합포체성 영양아세포에서는 중등도 내지 강한 양성반응을, 포상기태의 수포성 용모의 합포체성 영양아세포 및 용모암의 악성 합포체성 영양아세포의 세포질내에서는 강한 양성반응을 보였다.

2) HCG, HPL 및 SP-1 모두 난소의 미분화세포종, 미성숙 기형종 및 난소의 정상피종, endodermal sinus tumor 등의 조직내에서는 양성반응을 볼 수 없었다.

이상의 결과로 미루어 HCG, HPL 및 SP-1 은 정상 또는 종양성 합포체성 영양아세포에서만 생성 분비되는 hormone들이며, 타 세포 기원의 악성 종양에서 이들 hormone이 증가하는 것은 종양 구성세포중 합포체성 영양아세포양 거대세포 (syncytiotrophoblastic giant cell)가 존재함을 의미하는 것으로 사료된다.

## REFERENCES

- 1) Midgeley AR, JR and Pierce GB, Jr.: Immunohistochemical localization of human chorionic gonadotropin. *J Exp Med* 115:289, 1962
- 2) Thiede HA and Choate JW: Chorionic gonadotropin localization in the human placenta by immunofluorescent staining. *Obstet Gynecol* 22:433, 1963
- 3) Beck JS, Donald GD and Melvin JMO: Characterization of antisera to a growth-hormone-like placental antigen (human placental lactogen): immunofluorescent studies with these sera on normal and pathological syncytiotrophoblast. *J Pathol* 97:545, 1969
- 4) Fox H and Kharkongor FN: Immunofluorescent localization of chorionic gonadotropin in the placenta and in tissue cultures of human trophoblast. *J Pathol* 101:277, 1970
- 5) de Ikonoff, LK and Cedard L: Localization of human chorionic gonadotropic and somatomammotropic hormones by the peroxidase immunohistochemical method in villi and amniotic epithelium of human placentas (from six weeks to term). *Am J Obstet Gynecol* 116:124, 1973
- 6) de Ikonoff LK, Hubert C. and Cedard L: Etude histochemique du placenta humain. Localisation de l'hormone chorionique somatomammotrophique par des techniques immunohistochemiques. Characterisation d'un serum spécifique. *CR Acad Sci (D) (Paris)* 272:2938, 1971
- 7) Garthner A Larsson LI and Sjöberg NO: Immunohistochemical demonstration of chorionic gonadotropin in trophoblastic tumors. *Acta Obstet Gynecol Scand* 54:161, 1975
- 8) Morisada M, Yamaguchi H and Iizuka R: Immunobiological function of the syncytiotrophoblast: A new theory. *Am J Obstet Gynecol* 125:3, 1976
- 9) de Ikonoff LK and Courrier MR: Etude histochemique du placenta humain. Localisation ultrastructurale de l'hormone chorionique somatomammotrophique (HCS) par une technique immunocytochimique a la peroxydase. *CR acad Sci (D) (Paris)* 276:3355, 1973
- 10) de Ikonoff LK, Hubert C and Cedard L: Etude histochemique du placenta humain. Localisation de l'hormone gonadotrope chorionique par la technique immunohistoenzymologique a la peroxydase. *CR Acad Sci (D) (Paris)* 274:3431, 1972
- 11) Dreskin RB, Spicer SS and Greene W: Ultrastructural localization of chorionic gonadotropin. *J Histochem Cytochem* 18:862, 1970
- 12) Genbacev O Robyn C and Pantic V: Localization of chorionic gonadotropin in human term placenta on ultrathin sections with peroxidase-labelled antibody. *J Microsc* 15:399, 1972
- 13) Hamanaka N, Tanizawa O, Hashimoto T, Yoshinare S and Okudaira Y: Electron microscopic study on the localization of human chorionic gonadotropin (HCG) in chorionic tissue by enzymelabelled antibody technique. *J Electron Microsc* 20:46, 1971
- 14) Small CW and Watkins WB: Oxytocinase-immunohistochemical demonstration in the immature and term human placenta. *Cell Tissue Res* 162:531, 1975
- 15) Rosen SW, Weintraub BD, Vaitukaitis JL, Sussman HH, Hershman JM and Muggia FM: Placental proteins and their subunits as tumor markers. *Ann Intern Med* 82:71, 1975

- 16) Scardino PT, Cox HD, Waldmann TA, McIntire KR, Mittermeyer B and Javadpour N: *The value of serum tumor markers in the staging and prognosis of germ cell tumors of the testis. J Urol* 118:994, 1977
- 17) Josimovich JB and McLaren JA: *Presence in the human placenta and term serum of a highly lactogenic substance immunologically related to pituitary growth hormone. Endocrinology* 71:209, 1962
- 18) Li CH, Grumbach MM and Kaplan SL: *Human chorionic somato-mammotropin (HCS), proposed terminology for designation of a placental hormone. Experimentia* 24:1288, 1968
- 19) Grumbach MM and Kaplan SL: *On the placental origin and purification of chorionic "growth hormone-prolactin" and its immunoassay in pregnancy. Trans NY Acad Sci* 27:167, 1964
- 20) Beck P, Parker ML and Daughaday WH: *Radio-immunologic measurement of human placental lactogen in plasma by a double antibody method during normal and diabetic pregnancies. J Clin Endocrinol Metabol* 25:1457, 1965
- 21) Samaan N, Yen SSC and Friesen H: *Serum placental lactogen levels during pregnancy and in trophoblastic disease. J Clin Endocrinol Metabol* 26:1303, 1966
- 22) Saxena BN, Emerson K, Jr. and Selenkow HA: *Serum placental lactogen (HPL) levels as an index of placental function NEJM* 281:225, 1969
- 23) Rutman FM and Seppala M: *Pregnancy specific  $\beta$ -1-glycoprotein in trophoblastic disease. J Clin Endocrinol Metabol* 50:57, 1980
- 24) Park TS: *Clinical significance of SP-1. KTCP* 2:39, 1982
- 25) Seppala M: *Circulating concentration of specific placental proteins. Am J Obstet Gynecol* 139:702, 1981
- 26) Rosen SW, et al: *Ectopic production of pregnancy specific  $\beta$ -1-glycoprotein in vitro. Am J Obstet Gynecol* 137:525, 1980
- 27) Searle F: *Serum SP-1-pregnancy specific  $\beta$ -glyco-protein in choriocarcinoma and other neoplastic disease. Lancet* 1:579, 1978
- 28) Johnson S, et al: *Pregnancy specific  $\beta$ -1-glycoprotein in plasma and tissue extract in malignant teratoma of testis. Brit Med J* 9:951, 1972
- 29) Tietz NW: *Clinical guide to laboratory tests: 1st ed. Saunders Philadelphia* 1983, P.404
- 30) Horne CHW, et al: *Prognostic significance of inappropriate production of pregnancy protein by breast cancers. Lancet* 1:279, 1976
- 31) 김광평, 박태수: 정상 신생아와 황달을 가진 신생아의 혈중 SP-1량. *한국의과학* 15:260, 1983
- 32) 권오석, 김우균, 박태수: 한국인 정상 임신부의 혈중 SP-1 농도. *한국의과학* 15:25, 1983
- 33) Park AJ, Park TS and Lee HJ: *Study for the value of SP-1 as a tumor cell marker compared with AFP or CEA. KJCP* 4:59, 1984
- 34) Sternberger LA, Hardy PH, Jr. Cuculis JJ and Meyer HG: *The unlabelled antibody-enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex and its use in identification of spirochetes. J Histochem Cytochem* 18:315, 1970
- 35) Ascheim S and Zondek B: *Klin. Wochenschr* 6:1321, 1927 cited from *Am J Obstet Gynecol* 116:1124, 1973
- 36) Bossaert Y, Robyn CI, Limbosch JM, Meuse-Henry J and Hubinont PO: *Rev Fr Etud Clin Biol* 10:919, 1965 cited from *Am J Obstet Gynecol* 116:1124, 1973
- 37) Pattillo RA and Gey GO: *The establishment of a cell line of human hormone synthesizing trophoblastic cells in vitro. Cancer Res* 28:1231, 1968
- 38) Mason TE, Phifer RF, Spicer SS, Swallow RA and Dreskin RB: *An immunoglobulin-enzyme bridge method for localizing tissue antigens. J Histochem Cytochem* 17:563, 1969
- 39) Kurman, RJ, Scardino PT, McIntire KR, Waldmann TA and Javadpour N: *Cellular localization of alpha-fetoprotein and human chorionic gonadotropin in germ cell tumors of the testis using an indirect immunoperoxidase technique. Cancer* 40:2136, 1977
- 40) Gau G and Chard T: *The distribution of placental lactogen in the human term placenta. Brit J Obstet Gynecol* 82:790, 1975
- 41) Gau G and Chard T: *Localization of the protein hormones of the placenta by the immunoperoxidase technique. Brit J Obstet Gynecol* 83:876, 1976
- 42) Watkins WB: *Use of immunocytochemical techniques for the localization of human placental lactogen. J Histochem Cytochem* 26:288, 1978
- 43) Weintraub BD and Rosen SW: *Ectopic production of human chorionic somatomammotropin by non trophoblastic cancers. J Clin Endocrinol Metabol* 32:94, 1971

- 44) Saxena B, Goldstein, DP and Emerson K Jr.:  
*Serum placental lactogen levels in patients with molar pregnancy and trophoblastic tumors. Am J Obstet Gynecol*  
*102,115, 1968*

= Abstracts =

**Immunohistochemical Study on the Tissue  
Localization of Human Chorionic  
Gonadotropin (HCG), Human Placental  
Lactogen (HPL), and Pregnancy Specific  
beta-1 Glycoprotein (SP-1)**

Soon Lee, M.D., Sang Soo Park, M.D.,  
Sam Im Choi, M.D. and Sang Ho Kim, M.D.

*Department of Pathology, Chonbuk National University  
Medical School*

An immunohistochemical study on the tissue localization of human chorionic gonadotropin (HCG), human placental lactogen (HPL), and human pregnancy specific beta-1 glycoprotein (SP-1) in the non-neoplastic (5 incomplete abortion, 5 ectopic pregnancy) and neoplastic (hydatidiform mole 3 cases, 5 ectopic pregnancy) and neoplastic (hydatidiform mole 3 cases,

choriocarcinoma 2 cases) gestational status, and germ cell tumors of the ovary (dysgerminoma 2 cases, immature teratoma 1 case) and the testis (seminoma 2 cases, endodermal sinus tumor 1 case) by means of sensitive peroxidase-antiperoxidase method.

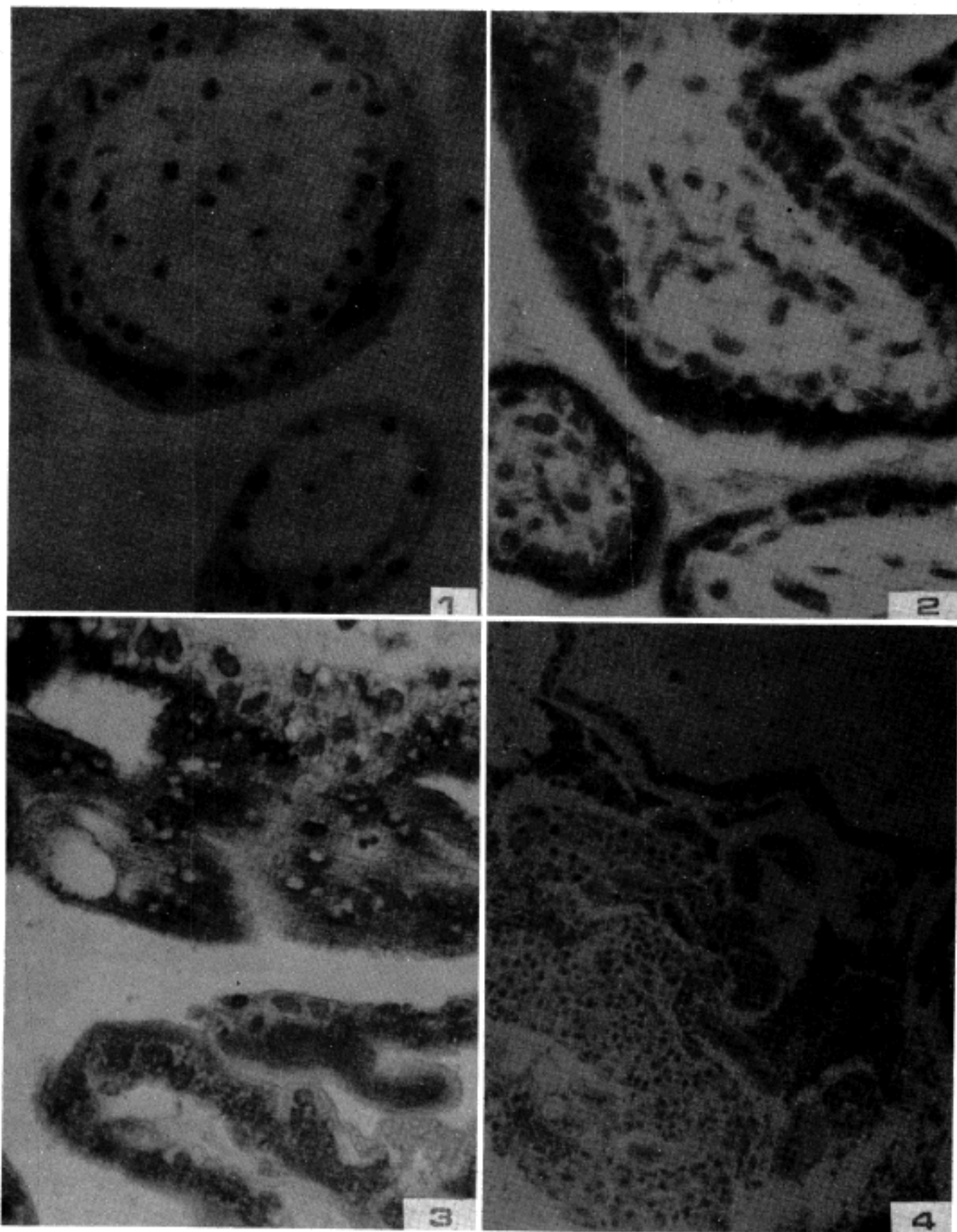
The results were as follows.

1) Cytoplasmic HCG, HPL, and SP-1 were readily identified in syncytiotrophoblasts of chorionic villi of the incomplete abortion and ectopic pregnancy, as moderate to strong positive reactions. In the cytoplasm of the neoplastic syncytiotrophoblasts of hydatidiform mole and choriocarcinoma, positive reactions were stronger than in non-neoplastic syncytiotrophoblasts. But the cytotrophoblasts and villous stromal cells showed negative reactions to these hormones.

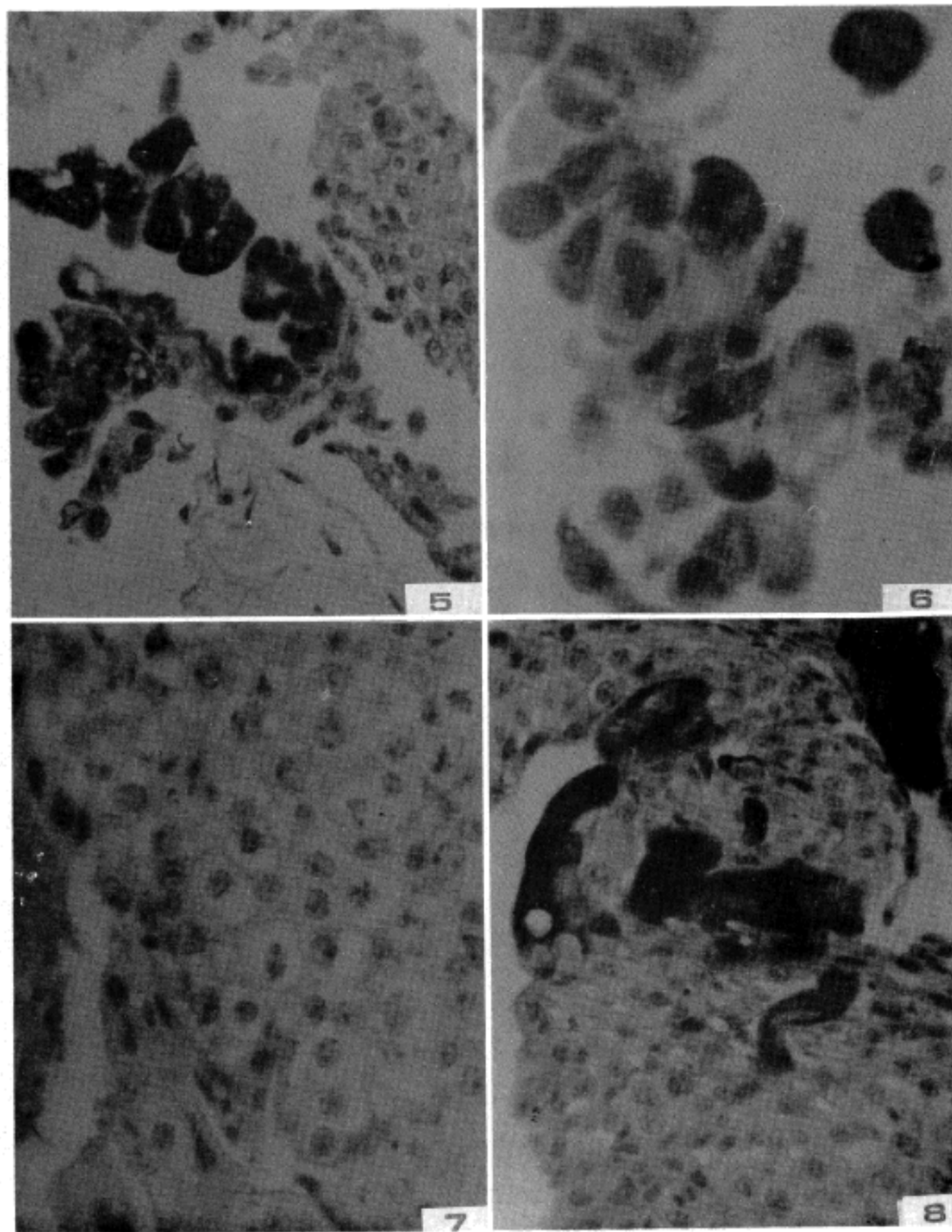
2) All of the tumor cells of dysgerminoma and immature teratoma of the ovary, and seminoma and endodermal sinus tumor of the testis showed negative reactions to HCG, HPL, and SP-1.

According to these results, HCG, HPL, and SP-1 are specifically synthesized and secreted by normal or neoplastic syncytiotrophoblasts. Malignant tumors originated from other cells or tissues than trophoblastic cells show elevated serum concentration of these hormones are only evident in the presence of syncytiotrophoblastic giant cells among the tumor cells.

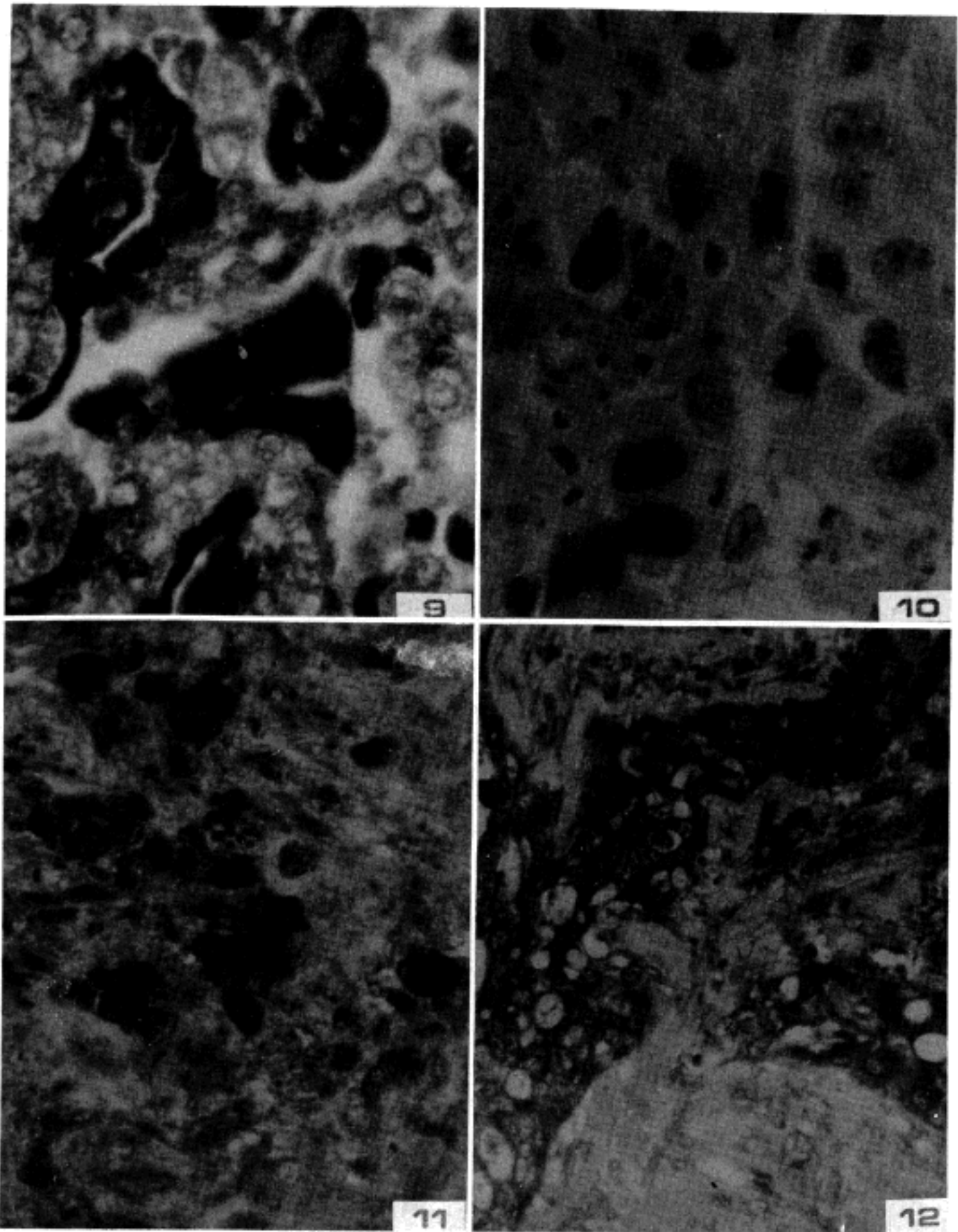




- Fig. 1.** Normal chorionic villi of incomplete abortion. Two layers of epithelial cells are evident, namely outer syncytiotrophoblasts and inner cytotrophoblasts. (H&E,  $\times 400$ )
- Fig. 2.** Cytoplasmic staining reactions in the normal chorionic villi to HCG are strongly positive and are confined to the outer syncytiotrophoblasts. (PAP stain for HCG,  $\times 400$ )
- Fig. 3.** Cytoplasmic staining reactions to HPL in the multinucleated syncytiotrophoblasts are strongly positive. (PAP stain for HPL,  $\times 400$ )
- Fig. 4.** Hydropic villi and proliferated syncytiotrophoblasts and cytotrophoblasts are shown in hydatidiform mole. (H&E,  $\times 100$ )



- Fig. 5.** Proliferated syncytiotrophoblasts of hydatidiform mole show strong positive cytoplasmic reactions to HCG, but the cytotrophoblasts show negative reaction. (PAP stain for HCG,  $\times 200$ )
- Fig. 6.** Proliferated syncytiotrophoblasts of hydatidiform mole show strong positive cytoplasmic reaction to SP-1. (PAP stain for SP-1,  $\times 400$ )
- Fig. 7.** Choriocarcinoma shows marked proliferation of neoplastic syncytiotrophoblasts, but there is no evidence of normal villous pattern. (H&E,  $\times 400$ )
- Fig. 8.** Cytoplasm of the neoplastic syncytiotrophoblasts of choriocarcinoma reveal strong positive reaction to HPL, but the neoplastic cytotrophoblasts show negative reaction. (PAP stain for HPL,  $\times 200$ )



- Fig. 9.** Cytoplasmic positive reaction to HCG in the neoplastic syncytiotrophoblasts of choriocarcinoma are very strong, but in the neoplastic cytotrophoblasts are trace. (PAP stain for HCG,  $\times 400$ )
- Fig. 10.** Infiltration of neoplastic syncytiotrophoblasts and cytotrophoblasts of choriocarcinoma and hemorrhagic evidences are noted. (H&E,  $\times 400$ )
- Fig. 11.** Very strong positive cytoplasmic reactions to SP-1 in the infiltrative syncytiotrophoblasts of choriocarcinoma are evident. (PAP stain for SP-1,  $\times 200$ )
- Fig. 12.** Strong positive reactions to HPL in the cytoplasm of proliferative syncytiotrophoblast of choriocarcinoma. (PAP stain for HPL,  $\times 200$ )