

피부 상피세포종양에서의 Beta-2-Microglobulin 출현에 관한 관찰*

서울대학교 의과대학 병리학교실 및 부설 암연구소

이 병 두 · 함 의 근

서 론

연구재료 및 방법

1968년 Berggård¹⁾는 사람의 소변내에 존재하는 거대 분자들을 관찰하고 이 물질에서 특이한 저분자량의 단백질을 추출하여 처음 보고한 이래 면역화학, 세포면역학 및 임상의학 분야에서 주목되고 각광을 받기 시작하였는데 이 단백질은 마침내 Beta-2-microglobulin으로 명명되었다.

Beta-2-microglobulin은 분자량이 11,800이며²⁾ immunoglobulin G의 light chain과 heavy chain의 아미노산 배열과 일치하며 림프구의 표면에 존재하는 사실이 알려졌고³⁾ 이어 Beta-2-microglobulin이 림프구에 의해 합성됨이 밝혀졌다³⁾. 또한 면역글로브린과 달리 이 단백질은 간엽세포 및 상피세포에서도 합성된다는 사실이 밝혀지게 되었다⁴⁾.

Beta-2-microglobulin은 human histocompatibility antigen(HL-A)들과 밀접한 관련을 갖고 있으며 light chain 부분과 동일하다고 하였으며⁵⁾ 그 대부분은 인체 유핵세포 표면에서 출현하는데 특히 피부의 악성 및 전구악성 병소(premalignant lesion)에서도 정도를 달리 하고 그 출현이 감소됨이 보고되었다⁶⁻⁸⁾.

이 물질의 출현의 차는 피부 종양성 병변의 악성도를 가름함에 이용될 수 있는 가능성이 대두되었다⁹⁾.

저자들은 Beta-2-microglobulin 출현의 차이가 피부 상피세포종양의 감별진단에 크게 도움 되리라 착안하여 본 관찰을 시도하였다.

1. 연구재료

관찰한 재료는 1980년 부터 1985년 사이에 서울대학교 병원 병리과에서 검색한 피부생검표본 중에서 선택된 30예의 피부상피성 종양 및 비종양성 병변과 정상피부를 대상으로 하였다. 그중 14예는 피부상피성 악성 종양(기저세포암 7예, 편평상피세포암 4예, Bowen씨병 1예, 흑색종 2예)이며 4예가 피부상피성 전구악성 병소(광선각화증 4예)이고, 6예가 피부상피성 양성 종양(편평상피세포 유두종 1예, 각질극세포종 1예, 색소모반 4예)이었다. 대조군 6예는 정상피부 및 비종양성 피부병변(비특이성 만성 피부염 2예, 위상피증식 2예, 광선피부병변 1예, 정상피부 1예)을 이용하였다(표 1, 2). 선택된 상피성 악성 종양은 연령평균 55.9세(31~80세), 남녀 7:7이고 병소부위는 안면부 7예, 외음부 3예, 대퇴부 2예, 항문주위부 1예, 발뒤꿈치 1예이었다.

피부 상피성 전구악성 병소인 광선 각화증(actinic keratosis)은 연령평균 64.5세(53~73세), 전부 여성이며, 부위는 전부 안면부이었다. 피부 상피성 양성 종양은 연령평균 41세(4~70세), 남녀 2:4이며 부위는 안면부 4예, 팔 1예, 등 1예 이었다.

2. 연구방법

1) 광학현미경적 관찰 : 대상군에 대한 병리조직학적 관찰로서 조직 채취후 10% 중성 formalin 용액에 고정하고 일상 탈수과정을 거친후 paraffin 포매하여 4~5 μ m의 두께로 박절, 건조, 탈 paraffin 과정을 거치고

1) 본 연구논문은 1985년도 서울대학병원 특진 연구비(합의근)의 일부로 이루어진 것임.

hematoxylin-eosin 중복염색을 시행하여 광학현미경으로 관찰 검토하였으며 기왕의 병리조직학적 진단을 재판정 확인하였다.

2) 면역조직화학적 관찰 : 대상군 24예와 대조군 6예에 대한 면역조직화학 염색재료로는 rabbit anti-human Beta-2-microglobulin(DAKO, Code No. A072)과 Universal DAKO PAP Kit™, Rabbit(Code No. K548)를 사용하였다. Beta-2-microglobulin 염색은 Sternberger의 PAP 방법을 따랐다¹⁰⁾.

Paraffin block를 5 μ m 두께로 박절하고, 전조시킨후 탈 paraffin 과정을 거쳤다. 3% H₂O₂용액에 5분간 처리하고 Tris 완충액에 10분간 담그었다.

1차항체로서 Beta-2-microglobulin에 대한 항-인체 가토항체(anti-human rabbit antibody)를 첨가하여 20분간 처리하였으며, Tris 완충액에 10분간 담그었고 2차항체인 돈-항 가토항체(swine anti-rabbit antibody)를 첨가하여 20분간 처리하였다. 이어 Tris 완충액에 10분간 담근후 PAP complex를 첨가하여 20분간 처리하였으며 Tris 완충액에 10분간 다시 담그고 마지막 단계로 H₂O₂-aminoethyl carbazole 용액을 모두 시행 하였고, 염색과정이 끝난후 Mayer의 hematoxylin 시약을 사용하여 핵에 대한 대조염색을 하였다. glycerol gelatin으로 cover glass를 덮고 겹경에 임하였다.

관찰 성적

1. 대조군

1) 정상피부 : 상피세포 표면을 따라 Beta-2-microglobulin이 진한 갈색으로 강하게 염색되었다.

2) 위상피종양증식, 비특이성 만성피부염 및 광선 피부병변 : 5예에서 모두 정상피부상피와 같은 정도로 세포 표면에 Beta-2-microglobulin이 출현하는 것을 관찰하였다.

2. 피부상피성 양성 종양

관찰된 각질극세포종, 편평상피세포 유두종 각 1예에서 정상피부 및 종양 병소의 차이없이 Beta-2-microglobulin이 세포표면을 따라가며 강하게 염색된 것을 관찰하였다. 그러나 색소모반(pigmented nevus) 4예중 2예는 강하게 염색되고, 1예는 약하게, 나머지 1예

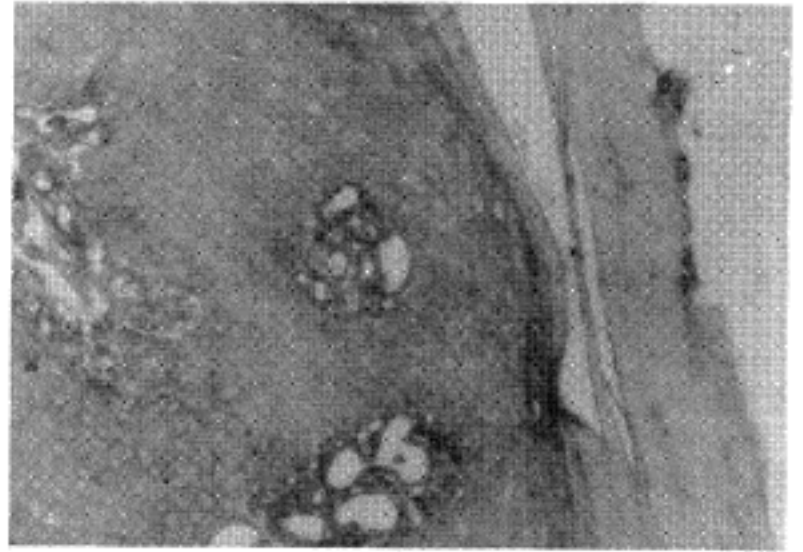


Fig. 1. Keratoacanthoma: Strong positive staining for Beta-2-microglobulin on the tumor cell surface. (PAP, $\times 100$)

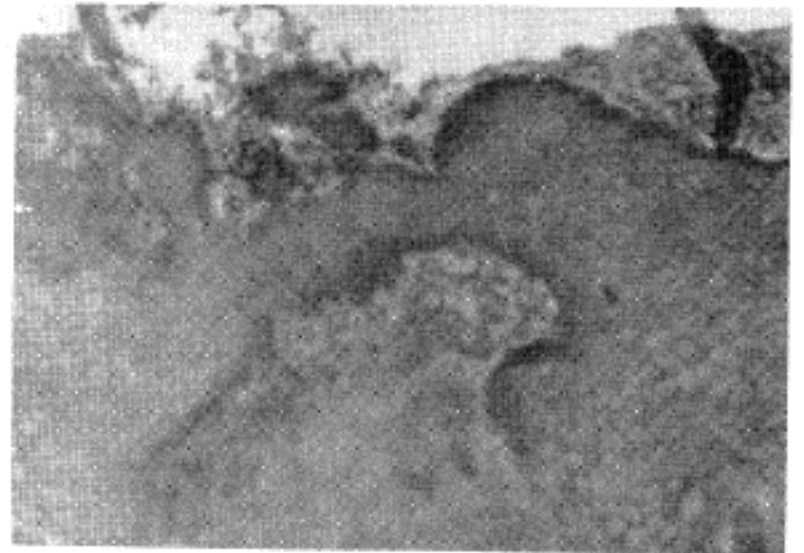


Fig. 2. Squamous papilloma: Strong positive staining for Beta-2-microglobulin on the tumor cell surface. (PAP, $\times 400$)

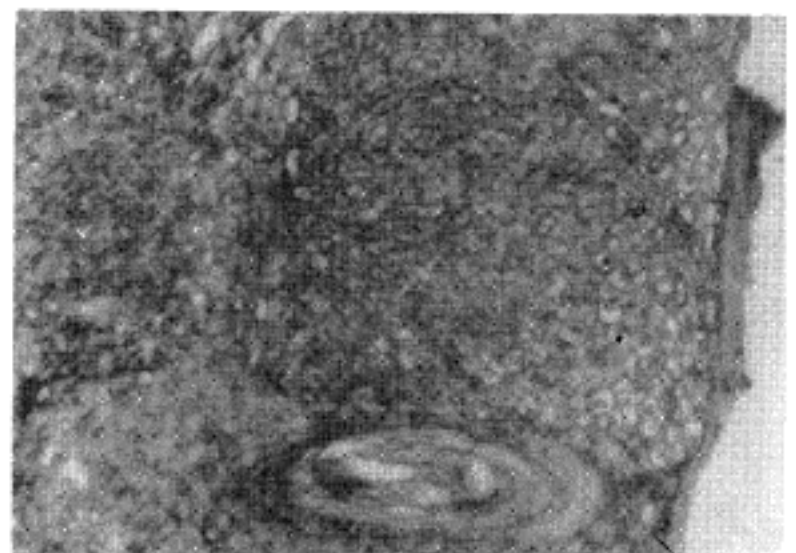


Fig. 3. Actinic keratosis: Weakly positive staining for Beta-2-microglobulin on the cell surface of the lesion. (PAP, $\times 400$)

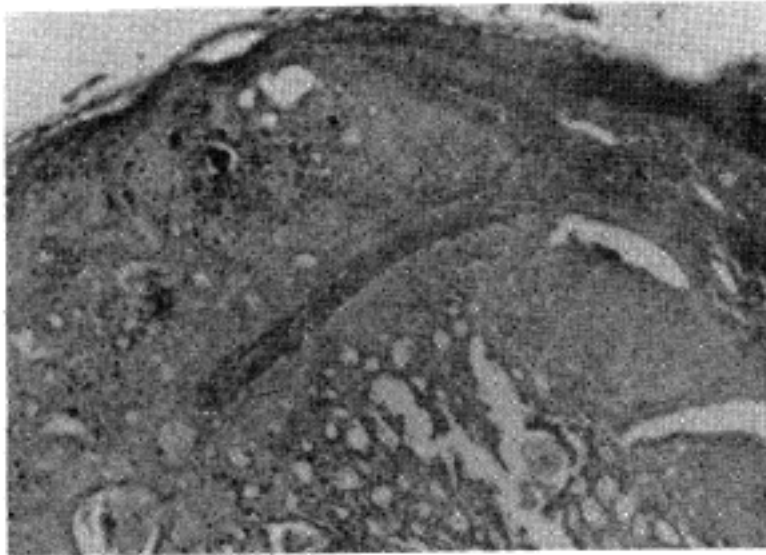


Fig. 4. Basal cell carcinoma: Loss of staining for Beta-2-microglobulin on the tumor cell surface. (PAP, $\times 100$)

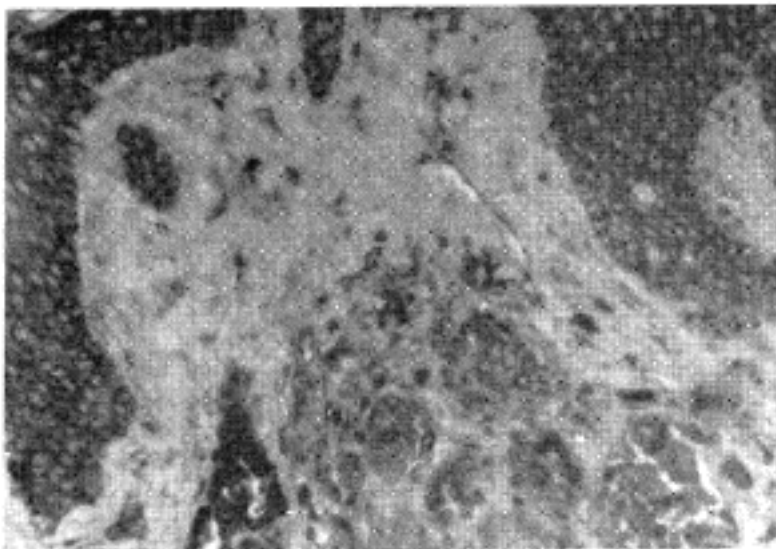


Fig. 5. Pigmented Nevus: Positive staining for Beta-2-microglobulin on the surface of nevus cells. (PAP, $\times 400$)

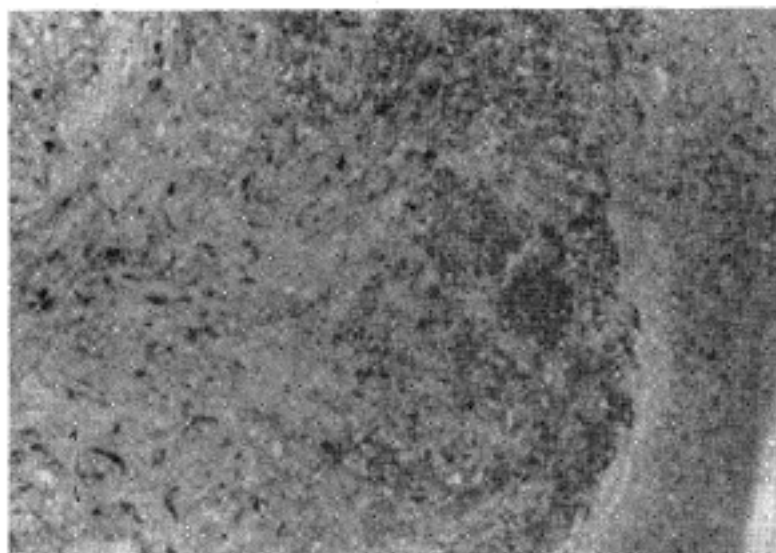


Fig. 6. Malignant melanoma, heel: Loss of staining for Beta-2-microglobulin on the tumor cell surface. Melanin pigments are scattered. (PAP, $\times 100$)

는 미약하게 Beta-2-microglobulin이 염색되는 것을 관찰하였다.

3. 피부상피성 전구악성 병소

관찰된 광선각화증 (actinic keratosis) 4예중 3예에서 Beta-2-microglobulin이 약하게 상피세포 표면에 염색되었으며, 나머지 1예에서는 보다 약하게 관찰되었다.

4. 피부상피성 악성 종양

1) 기저세포암 : 7예중 5예에서는 Beta-2-microglobulin의 염색도가 거의 소실되어 음성으로 관찰되었고, 2예에서 미약하게 양성으로 염색되었다.

2) 편평상피세포암종 : 4예중 2예에서 음성을, 1예에서 미약하게 1예에서 약하게 양성으로 Beta-2-microglobulin 염색성이 관찰되었다.

3) 상피내암종 (Bowen's disease) : 관찰된 1예에서 약하게 Beta-2-microglobulin 염색성이 관찰되었다.

4) 흑색종 : 관찰된 2예중 1예에서 Beta-2-microglobulin 염색의 소실로 음성으로, 1예에서는 미약하게 양성으로 염색됨을 관찰하였다.

Table 1. Summaries of malignant skin lesions

| Case | Histological diagnosis, type of tumor | Location | Sex | Age |
|------|---------------------------------------|---------------------|-----|-----|
| 1 | Basal cell carcinoma nevoid type | eyelid | M | 61 |
| 2 | Basal cell carcinoma | eyelid | M | 38 |
| 3 | Basal cell carcinoma recurred | Lt. face | F | 84 |
| 4 | Basal cell carcinoma adenoid type | Rt. molar | F | 56 |
| 5 | Basosquamous carcinoma | Ant. scalp | M | 70 |
| 6 | Basal cell carcinoma superficial | Rt. infra-auricular | F | 36 |
| 7 | Basal cell carcinoma superficial | Lt. lower eyelid | M | 61 |
| 8 | Squamous cell carcinoma | vulva | F | 51 |
| 9 | Carcinoma in situ | vulva | F | 52 |
| 10 | Carcinoma in situ | vulva | F | 31 |
| 11 | Squamous cell carcinoma | thigh | M | 52 |
| 12 | Bowen's Disease | perianal | M | 80 |
| 13 | Malignant melanoma | Rt. thigh | M | 51 |
| 14 | Malignant melanoma | Lt. heel | F | 59 |

Table 2. Summaries of premalignant and benign skin lesions

| Case | Histological diagnosis, type of tumor | Location | Sex | Age |
|------|---|--------------------|-----|-----|
| 1 | Solar keratosis | face | F | 73 |
| 2 | Solar keratosis | Lt. lower eyelid | F | 63 |
| 3 | Solar keratosis | Lt. cheek | F | 69 |
| 4 | Solar keratosis, hypertrophic | nose | F | 53 |
| 5 | Keratoacanthoma | back | F | 70 |
| 6 | Squamous cell papilloma | Lt. forehead | M | 61 |
| 7 | Pigmented nevus | Lt. upper arm | F | 64 |
| 8 | Pigmented nevus, compound type | Rt. cheek | F | 26 |
| 9 | Pigmented nevus, compound type | Rt. cheek | F | 4 |
| 10 | Pigmented nevus, intradermal type | Lt. auricular | M | 21 |
| 11 | Pseudoepitheliomatous hyperplasia | vulva | F | 50 |
| 12 | Pseudoepitheliomatous hyperplasia with chronic inflammation | Rt. dorsum of foot | F | 57 |
| 13 | Chronic non-specific dermatitis with solar change | face | M | 53 |
| 14 | Non-specific dermatitis | Rt. cheek | F | 3 |
| 15 | Actinic change | Rt. forehead | M | 55 |
| 16 | Normal skin | nail bed | M | 5 |

Table 3. Results of immunoperoxidase staining for Beta-2-microglobulin

| Histological diagnosis | No. of cases | Negative | Weakly positive | Positive |
|-----------------------------------|--------------|----------|-----------------|----------|
| Basal cell carcinoma | 7 | 5 | 2 | — |
| Squamous cell carcinoma | 4 | 2 | 2 | — |
| Bowen's disease | 1 | — | 1 | — |
| Malignant melanoma | 2 | 1 | 1 | — |
| Solar keratosis | 4 | — | 4 | — |
| Keratoacanthoma | 1 | — | — | 1 |
| Squamous cell papilloma | 1 | — | — | 1 |
| Pigmented nevus | 4 | 0 | 2 | 2 |
| Pseudoepitheliomatous hyperplasia | 2 | — | — | 2 |
| Chronic non-specific dermatitis | 2 | — | — | 2 |
| Actinic change | 1 | — | — | 1 |
| Normal skin | 1 | — | — | 1 |

고 안

본 관찰의 목적은 Beta-2-microglobulin의 피부상피세포종양 및 비종양성 병변에서 감별진단적 이용가치 여부를 알아보는데 있었다. 원발성 악성 피부상피종양에서는 Beta-2-microglobulin 염색성의 소실이 현저하게 이루어졌으나, 악성종양의 전구병소인 광선각화증(actinic keratosis)에서는 미약한 소실을 보였고, 양성 종양에서는 정상 피부상피에서와 다름없이 강하게 출현하는 것으로 보아 감별진단에 이용가치가 있다고 생각한다. Turbitt와 Mackie⁷⁾도 23예의 피부상피의 악성종양과 10예의 전구악성 병소 및 12예의 피부상피 양성 종양을 대

상으로하여 PAP 염색법으로 본 저자들의 결과와 유사한 결과를 얻었다. 이들의 관찰 결과를 보면 기저세포암 6예전부, 편평상피세포암 6예중 3예, 상피내암종(Bowen's disease) 6예중 5예, 흑색종 5예 전부에서 Beta-2-microglobulin의 완전 소실을 보았다고 하며, 광선각화증(actinic keratosis)의 경우에는 10예중 7예가 약하게 Beta-2-microglobulin의 출현을 보였고, 양성 종양에서는 각질극세포종(keratoacanthoma) 6예중 5예에서, 기저세포유두종 6예중 5예에서 Beta-2-microglobulin이 강한 양성 반응을 보였다고 한다. 이처럼 악성 병변 일수록 Beta-2-microglobulin의 염색성이 떨어지는 것은 Beta-2-microglobulin의 출현이 피부상피의 악성 종양세포 표면에서부터 없어지는 것이 아닌가 하는 가설을 뒷받침 해준다⁷⁾.

그러면 이 Beta-2-microglobulin의 출현이 악성 종양에서 소실되는 기전을 살펴보면 몇가지 가능한 설명을 제시하고 있다. Turbitt와 Mackie⁷⁾는 세가지 가능성의 기전을 들었는데, 첫째, 세포들이 너무빨리 복제되는 과정에서 Beta-2-microglobulin의 합성양이 부족하여 악성 종양세포 표면에서 관찰되지 않는 가능성을 들었고, 같은 조건에 있는 건선(psoriasis)에서¹¹⁾ 오히려 Beta-2-microglobulin이 강하게 출현하는 것으로 보아

타당치 못함을 지적하고 있으며⁷⁾ 둘째, 악성 종양세포의 표면이 변질되어 Beta-2-microglobulin 분자가 더 이상 어느 특성의 항체에 결합할 수 없지 않겠는가 하는 설명으로 즉 항원-항체 결합에 일종의 steric hindrance 형태 또는 peptide chain 그 자체가 변해서 특정한 항체와 더 이상 반응할 수 없을 만큼 크게 항원적으로 달라진다는 타당성있는 기전설명이며, 셋째, 세포의 유전물질이 변화되든지 또는 합성 경로가 변해서 악성 세포들이 Beta-2-microglobulin을 더 이상 합성할 수 없다는 기전설명으로 타당성이 있다고 보겠다. 또한 Vinninghe와 Neumann⁸⁾은 기저세포암의 세포표면에 Beta-2-microglobulin이 부재함으로 세포간의 조절이 소실되고, contact inhibition이 소실되어 악성 종양 세포들이 제어되지 않는 성장을 일으키는 것이 아닌가 생각했다. 이들은 Beta-2-microglobulin 출현을 관찰함으로써 태양빛이나 비소같은 발암물질의 영향을 상피세포 표면에서 알수있고, 따라서 가시적인 종양이 생기기 전이라도 악성 변화를 예측할 수 있지 않을까 생각했다. 그러나 본 연구에서는 광선 피부병변(actinic change)에서 Beta-2-microglobulin의 출현의 차이점을 관찰 할 수 없었다.

Tjernlund와 Forsum은⁶⁾ 면역형광법을 이용하여 PAP 방법의 결과와 비슷한 성적을 얻었다. 그러나 Dipersio등¹²⁾은 PAP와 면역형광법 그리고 R.I.A. 방법을 병행하여 검사성적을 얻어 상호 비교하였다. 이 중에서 PAP 방법이 Beta-2-microglobulin을 평가하는데는 가장 좋은 검사법임을 제시하였다. Horton등¹³⁾은 PAP 방법의 경우에도 토끼의 polyclonal antibody에 비해서 chicken antibody를 사용하는 것이 더 예민하게 반응하고, 비특이적인 배경반응을 감소시킨다고 보고하였다. 이와같은 면역반응 기전이 어느세포에서 일어나는가에 대하여 Forsum등¹⁴⁾은 Langerhans cell로 생각하였다.

결 론

피부상피성 병변에서 Beta-2-microglobulin의 출현을 면역조직화학적 방법으로 검색하고자 악성 종양 14예, 전구악성 병소 4예, 양성 종양 6예 및 비종양성 병변과 정상피부(대조군) 6예등 총 30예를 관찰한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) 대조군 6예(위상피종양중식 2예, 만성 피부염 2예,

광선피부병변 1예, 정상피부 1예)에서는 Beta-2-microglobulin이 상피세포 표면에 강하게 염색되었다.

- 2) 피부 상피성 양성 종양 6예에서도 색소모반을 제외하고는 모두 세포표면에 Beta-2-microglobulin이 강하게 염색되었다.

- 3) 피부 상피성 전구악성 병소인 광선 각화증(solar keratosis) 4예 모두에서 Beta-2-microglobulin이 약하게 염색되었다.

- 4) 피부 상피성 악성 종양 14예(기저세포암 7예, 편평상피 세포암 4예, Bowen씨병 1예, 흑색종 2예)등 8예에서 Beta-2-microglobulin의 소실을 보였고, 나머지 6예에서도 미약한 염색반응을 보였다.

위의 결과로 면역조직화학적 Beta-2-microglobulin PAP 검사법은 피부상피성 악성 종양, 전구악성 병소 및 양성 종양의 감별진단에 도움이 되는 조직병리학적 방법이 될 수 있음을 알았다.

REFERENCES

- 1) Berggård I and Bearn AG: *Isolation and properties of a low molecular weight Beta-2-microglobulin occurring in human biological fluids. J Biol Chem* 243:4095, 1968
- 2) Peterson PA, Cunningham, Berggård I and Edelman GH: *Beta-2-microglobulin-A free immunoglobulin domain. Proc Natl Acad Sci USA*, 69:1697, 1972
- 3) Bernier GM and Fanger MW: *Synthesis of Beta-2-microglobulin by stimulated Lymphocytes. J Immunol* 109:407, 1972
- 4) Hütteroth TH Cleve H, Litwin SD and Poulik MD: *The relationship between Beta-2-microglobulin and immunoglobulin in cultured human lymphoid cell lines. J Exp Med* 137:838, 1973
- 5) Peterson PA, Rask L, and Lindblom JB: *Highly purified papain-solubilized HL-A antigens contain Beta-2-microglobulin. Proc Nat Acad Sci USA* 71: 35, 1974
- 6) Tjernlund MU and Forsum U: *Beta-2-microglobulin in basal cell carcinoma. Acta Dermatovener (Stockholm)* 57:503, 1977
- 7) Turbitt ML and Mackie RH: *Loss of Beta-2-microglobulin from the cell surface of cutaneous malignant and premalignant lesions. Br J Dermatol* 104:507, 1981

- 8) Vinninghe HRKA and Neuman HAM: *The presence of Beta-2-microglobulin on the membrane of the keratinocyte in premalignant skin lesions. Br J Dermatol* 104:515, 1981
- 9) Dahl M: *Beta-2-microglobulin in skin cancer. Am Acad Dermatol* 5:698, 1981
- 10) Sternberger LA, Hardy PH, Jr, Cuculis JJ, and Meyer HG: *The unlabeled antibody enzyme method of immunohisto-chemistry. J Histochem Cytochem* 18:315, 1970
- 11) Weinstein GD and Frost P: *Abnormal cell proliferation in psoriasis, J of Invest Dermatol* 50:254, 1968
- 12) Dipersio LP, Weiss MA, Michael JG and Pesce AJ: *Evaluation of the peroxidase method for demonstrating cell membrane Beta-2-microglobulin. AJCP* 77: 700, 1982
- 13) Horton JJ, Holden CA, Ward PJ and Mc Donald DM: *Exploitation of phylogenetic distance in cell surface immune labelling: Studies with Beta-2-microglobulin, J invest Dermato* 85:96, 1984
- 14) Forsum U, Klaveskog L, Tjernlund UM, Peterson PA and Sanderson AR: *Significance of the expression of HLA-DR antigen on epidermal Langerhans cells. Acta Dermatovener. Suppl* 79:37, 1978

— Abstract —

Presence of Beta-2-microglobulin in Cutaneous Epithelial Tumors

Byung Doo Lee, M.D. and Eui Keun Ham, M.D.

*Department Pathology, College of
Medicine and Cancer Reseach Instifute,
Seoul National University*

The Beta-2-microglobulin is the part of light chain of

human histocompatibility antigen (HLA). This protein can be observed in most of the human nucleated cells. Some of reports indicated that the Beta-2-microglobulin was lost completely or partially in the malignant or premalignant lesions. Observations on presence of Beta-2-microglobulin were made on 24 cases of malignant, premalignant and benign epithelial umors and 6 cases of normal or non-neoplastic epithelial lesions in the skin, using PAP method.

The results obtained were follows:

1) Normal epidermis and non-neoplastic cutaneous lesions (chronic non-specific dermatitis, actinic change of skin with pseudoepitheliomatous hyperplasia) showed strong positive staining along the cutaneous epithelial cytoplasmic surface for Beta-2-microglobulin in all 6 cases.

2) Benign cutaneous tumors (keratoacanthoma, squamous cell papilloma and pigmented nevus) showed similar strong positive staining for Beta-2-microglobulin along the epithelial cell surface in 4 out 6 cases. Remaining 2 cases were out of 4 pigmented nevus, which showed weakly or pretty weakly staining.

3) Premalignant cutaneous lesions as solar keratosis showed generally weak positive staining along the ephthelial cytoplasmic surface in all 4 cases.

4) Malignant cutaneous tumors (basal cell carcinoma, squamous cell carcinoma, Bowen's disease and malignant melanoma) showed mostly negative staining along the surface of epithelial cells for Beta-2-microglobulin, in 8 out of 14 cases. Remaining 6 cases showed slightly weak or patchy positive staining.

As above observation, the presence of Beta-2-microglobulin in cutaneous epithelial lesions using PAP method could be indicated as one of good differential tool for histopathologic diagnosis in cutaneous malignant lesions.