

## 타액선 종양의 S-100 단백질에 대한 면역조직화학적 검색

전남대학교 의과대학 임상병리학교실

강 현 영 · 양 동 옥 · 유 주 용

### 서 론

S-100 단백질은 Moore<sup>1)</sup>에 의해 소의 뇌조직에서 추출된 산성 단백질로서 GFAP(glial fibrillary acidic protein)과 마찬가지로 뇌조직이나 신경조직에 특이한 단백질로 알려져 왔다<sup>2)</sup>. 그러나 최근 신경조직이외의 다른 조직, 즉 연골세포, 흑색세포(melanocyte), 림프선의 세망세포(reticulum cell), 피부의 랑거한스세포, 타액선 또는 유방등의 근상피세포 등 많은 비신경성 조직에서도 S-100 단백질이 분포 또는 면역조직화학적으로 관찰됨으로써 S-100 단백질은 신경특이성 항원의 개념에서 신경조직 관련항원으로 전환되어 가고있다<sup>3)</sup>. 외과병리 영역에서 면역조직화학적 염색은 Coones와 Kaplan<sup>4)</sup>에 의해 면역형광법이 개발된 이후 세포내외의 항원성을 갖는 물질을 관찰하는데 널리 이용되어 오고 있으며 Nakane와 Pierce<sup>5)</sup>에 의해 통상의 paraffin 절편에서도 적용이 가능한 면역효소법이 소개되고, 특히 Sternberger등<sup>6)</sup>에 의한 peroxidase-antiperoxidase complex (PAP)가 소개되면서부터는 더욱 광범위하게 이용되어 면역효소법을 흔히 immunoperoxidase법 또는 PAP법이라고 명칭하고 있다. 이러한 면역효소법은 최근 PAP법보다 더 높은 예민도를 갖는다는 Avidin-Biotin complex(ABC)법<sup>8,9)</sup>에 의한 immunoperoxidase법이 소개되면서부터 더욱 발전하여 각종 항원이나 면역항체, 종양특이항원등을 증명하여 미분화 악성종양에 대한 감별진단이외에도 종양의 조직발생등을 연구하는데 필수적인 관찰방법의 하나가 되었다<sup>10)</sup>.

타액선종양중 가장 흔한 병형인 다형성선종(pleomor-

phic adenoma)은 아직까지 이론(異論)이 없는 것은 아니나 대표적인 근상피세포 기원으로 알려져 있다<sup>11)</sup>. Nakazato등<sup>12)</sup>은 타액선의 다형성선종에서 S-100 단백질과 GFAP를 면역효소법으로 관찰한 바 있으며 Kahn등<sup>13)</sup>은 타액선의 정상 도관에서도 S-100 단백질이 부분적이거나 관찰된다고 하였다. 이런 점에서 저자는 조직발생을 달리 할 수 있는 각종 타액선 종양의 종양종류별 S-100 단백질의 유무와 분포양상을 관찰코자 PAP법보다 감도가 높다고 알려진 ABC법을 이용하여 본 검색을 시도하였다.

### 재료 및 방법

재료로는 최근 3년간 본 교실에서 관찰된 타액선 종양 중 다형성 선종 10예, 단형성선종인 선임파종(adenolymphoma) 1예, 관성선종(tubular adenoma) 1예, 점액성표피양종양(mucoepidermoid tumor) 2예, 선종낭포성암(adenoid cystic carcinoma) 2예, 그리고 1예의 장액성선방세포종(acinic cell tumor)과 다형성선종에서 발생한 편평상피암종 1예 등 총 18예를 대상으로 하였다. 18예의 타액선 종양중 11예는 이하선에 발생하였고 3예는 악하선, 2예는 설하선, 2예는 경구개의 소타액선에서 각각 발생하였다.

환자의 성별 분포는 남자는 8명, 여자가 10명이었으며 연령별 분포는 16세부터 66세까지였다.

한편 정상 타액선 조직으로는 종양조직 주변부를 이용하였다.

ABC법에 의한 면역조직화학적 염색 : 통상의 H&E 표본을 제작하기 위해 만들어진 paraplast 절편을 만들어 ABC법에 의한 immunoperoxidase 방법으로 염색하였다. 즉 paraplast 절편을 약 4 $\mu$ 두께로 세절하여 xylene

\* 본 논문의 요지는 1986년 대한병리학회 제11차 춘계학술대회에서 발표되었음.

과 alcohol을 거쳐 증류수로 합수시켰고 1% periodic acid 수용액으로 15분간 처리하여 조직내의 내재성 peroxidase를 억제시켰으며 PBS(phosphate buffered saline, 10mM, pH 7.6)로 세척하였다. 1차 및 2차 항체의 비특이적 결합을 억제시키기 위하여 조직을 산양혈청에 20분간 작용시킨 후 anti-human S-100 rabbit anti-serum(1 : 4,000 희석액, DAKO 사 제)으로 16시간 실온하에 도포하였고, PBS로 세척하였다. 산양의 biotinylated anti-rabbit IgG(Vector사 제)를 결합항체로 하여 ABC(Vector사 제)를 작용시킨 후 peroxidase의 기질액인 과산화수소와 발색제인 diaminobenzidine-4 HCl(DAB, Sigma 사 제)로 발색시켰다. 이후 hematoxylin 대조염색후 통상의 방법대로 탈수과정을 거쳐 canada balsam으로 봉입 후 광학현미경으로 관찰하였다. 한편 염색때마다 일차항체 대신 PBS만을 도포시킨 표본을 음성대조용으로 하였으며 종양주위의 확인된 정상 타액선 조직의 근상피세포 및 말초신경 섬유가 확인된 것을 양성대조용으로 이용하였다.

## 성 적

### 정상타액선

장액선 선방세포는 일부에서 부분적으로 약하게 관찰되는 S-100 단백양성 소견을 제외하고는 대부분 음성이었으며 기저막 부위에 인접한 근상피세포에서 약한 양성반응이 관찰되었다(부도 1A). 점액성 선방세포, 소엽내 도관 상피세포는 음성이었으며 소엽사이의 혈관이나 지방세포 역시 음성이었고 신경조직에서만 강한 양성반응을 보였다(부도 1B, C).

### 다형성 선종

도관을 만들고 있는 내부상피세포는 S-100 단백 음성이었으나 주변부의 납작한 근상피세포에서는 부분적으로 양성이었다. 근상피세포가 밀집되어 피나 판을 만들고 있는 부위에서는 S-100 단백질이 강하게 염색되었는데 세포질에서 양성되었고 이 역시 음성인 근상피세포가 많이 관찰되어 모든 근상피에서 S-100 단백질이 양성으로 반응하는 것은 아니었으며(부도 2), 방추형의 세포가 밀집된 간질부나 점액양 변성이 현저한 부위에서는 약 내지 강한 반응을 보이는 성상형의 근상피세포가 산재되어 관찰되는 것을 제외하고는 음성이었고, 연골성 화생부의 연골

세포에서 강한 양성반응을 보였는데 이 역시 성숙된 연골세포를 제외하고 미성숙 연골세포에서는 음성반응이 대부분이었다(부도 3A, B). 한편 섬유형 간질부나 도관벽부의 근상피세포 밀집부위에서 관찰되는 편평상피부나 각질부 진주 또는 편평상피 낭포는 부위에 따라 다소의 차이는 있으나 약 내지 중등도의 S-100 단백 양성반응을 보였다(부도 4A, B).

### 단형성 선종

**선입파종 :** 상피세포 자체는 S-100 단백염색에 음성이었으며 단지 간질부의 입파구 집합부의 일부 세망세포에서만 약한 양성반응을 보였다(부도 5A, B).

**관성선종 :** 대부분의 도관성 상피세포는 음성이었으나 일부에서만 약한 양성반응을 보였고 종양성 도관 사이사이의 밀집된 세포피나 판에서 중등도의 양성반응을 보였다.

### 장액성 선방세포종

S-100 단백염색에 거의 대부분이 음성이었고 장액성 선방세포 사이사이에서 약 내지 중등도의 양성세포가 관찰되었다(부도 6).

### 점액성 표피양암

점액을 분비하는 관상 또는 도관의 상피는 S-100 단백 염색 음성이었으며 편평상피세포의 표피양부와 사이사이의 근상피세포에서는 약 내지 중등도의 양성이었다(부도 7).

### 선양낭포성암

낭포내의 분비물에서 관찰되는 비특이적인 약양성 반응을 제외하고는 종양세포는 대부분 S-100 단백염색에 음성이었다(부도 8).

### 다형성 선종에서 발생한 편평상피세포암

잘 분화된 편평상피피나 케라틴 진주에서 약한 S-100 단백양성반응을 보였으나 비정형의 미분화 편평상피암종 세포에서는 거의 음성반응이었다.

## 고 찰

정상 타액선의 S-100 단백질에 대한 면역조직화학적 성

적을 보면 근상피세포에서는 양성반응을 보임에 일치된 견해를 보이거나 도관상피세포, 소엽내 선방세포, 간질내 지방조직등에 대해서는 학자마다 양성반응에 차이가 있다<sup>4,12-15</sup>).

본 실험에서 관찰한 성적을 보면 정상 타액선에서 근상피세포는 부위에 따라 차이는 있으나 약 내지 중등도 이상의 반응을 보인다. 그리고 신경조직은 강양성, 장액성 선방세포는 부분적인 약양성을 보이거나, 점액성 선방세포와 지방세포에서는 음성반응을 보였다. 이와 같이 관찰자마다 정상 타액선에서 S-100 양성반응에 차이가 있는 것은 두가지로 요약될 수 있을 것 같다. 첫째는 S-100 단백질에 대한 면역조직화학적 검색의 방법별 예민도와 특이도의 차이이며, 둘째는 최근에 밝혀진 S-100 단백질의 두 가지 subunit인  $\alpha$ 와  $\beta$  subunits의 세포별 구성분포차이<sup>15)</sup>에 의한 예민도의 차이인 것 같다. 그러나 이중 특히 강조해야 할 것은 특이도이다. 일반적으로 PAP법이나 본 실험의 ABC법에서 사용되는 항체는 이온결합등의 비특이적 결합에 의하여 collagen과 reticulin에 결합함으로써 배경염색을 이루는데 이를 방지하기 위하여 neutral immunoglobulin에 의한 전처치<sup>17,18)</sup>나 일차항체의 희석배수를 높여주어 배경염색의 억제를 통해서 위 양성반응을 억제시키는 것이 통례이다. 즉 관찰자에 따른 차이에 있어 가장 중요한 것은 위 양성반응에 의한 특이도의 차이가 가장 큰 차이라고 사료된다.

타액선 종양에서 관찰한 S-100 단백질의 염색소견을 보면 다형성선종에서는 비교적 강한 양성반응을 보인다. 그리고 단형성선종인 관상선종, 장액성선상피세포종양, 점액성표피양종양, 다형성선종에서 발생한 편평세포암등에서는 종양세포에서 염색정도와 범위에 있어서 차이는 있으나 S-100 단백질에 양성반응을 보인다. 그리고 선임파종이나 선양낭포성 암종만 S-100 단백질 염색에 음성반응을 보인다. 다형성선종에서 S-100 단백질 양성소견은 이 종양의 구성세포가 근상피세포와 밀접한 관련이 있으며<sup>11,19-26)</sup> 근상피세포 이외에도 간질부에서 관찰되는 연골성 화생의 연골세포가 S-100 단백질에 양성이라는 기존 사실<sup>3,4)</sup>로도 유추할 수 있다. 따라서, 다른 종양에 비하여 비교적 강한 양성반응을 보였고 여러 학자들<sup>12,14,15)</sup>이 관찰한 소견에도 부합되었다. 그러나 본 실험에서 특이했던 것은 다형성선종이 편평상피양화생이나 각질화 진주부위에서 역시 S-100 단백질 염색상 양성반응을 보였다는 점이다. 일반적으로 표피세포에 있어서 S-100 단백질

색 소견은 음성<sup>4)</sup>이다. 따라서 다형성선종의 편평상피양 화생에서 관찰된 S-100 양성소견은 표피세포와는 달리 다형성선종의 근상피세포에 의한 편평상피화생과 관련이 있는 것 같았다.

다형성 선종의 조직발생에 대해서는 아직까지도 이론이 많다. 그러나 과거 이배염성 기원에 근거한 혼합종의 개념은 많이 쇠퇴된 것 같으며<sup>1)</sup>, Willis<sup>22)</sup>등의 연구에 의한 상피세포 기원의 개념에 입각한 다형성 선종의 명명이 보편화되고 있다. Mylius<sup>19)</sup>와 다른 학자들<sup>21-23)</sup>의 전자현미경적 연구에 의하면 다형성선종내의 간질부 조직의 주된 성분과 기원세포로서 근상피세포의 중요성이 강조되고 있는데 본 실험에서 타 종양에 비하여 S-100 단백질 염색상 비교적 강한 양성반응이 보였음은 면역세포화학적 측면에서도 이러한 주장은 부합된다고 하겠다. 그러나 염색반응이 음성에서부터 강양성에 이르기까지 다양하고 또한 근상피세포에서 이행된 연골화생부나 편평화생 및 각질낭포부와 주변 근상피세포피에서 S-100 단백질 양성세포의 균일한 염색양상이 관찰되지 않은 점은 본 세포만에 의한 간질부의 화생과 조직발생을 뒷받침하는데는 미흡하였다.

단형성 선종의 하나인 관상선종은 다형성선종에 비해서는 매우 약한 S-100 단백질 양성반응을 보였다. 또한 도관상피세포와 함께 근상피세포가 밀접한 관련이 있다고 알려진 점액성 표피양 종양에서 S-100 단백질은 편평상피화생이 관찰된 부위에서만 양성으로 약하게 관찰된다. 선양낭포성 암종에서는 근상피세포가 형태적으로 증명된다고 알려져 있으나 S-100 단백질 염색에서 거의 음성반응을 보였다. 한편 장액성 선방세포의 기원으로 추정<sup>11)</sup>하고 있는 장액성 선방세포 종양에서는 세포내에서 약한 S-100 단백질 양성반응이 관찰되며, oncocytic duct 상피 기원으로 알려져 있는 선임파종<sup>11)</sup>에서는 침윤 증식된 망상세포에서만 S-100 단백질 양성반응이 관찰되어 선임파종의 S-100 단백질 염색소견은 음성임을 보여준다. 이러한 사실은 S-100 단백질은 타액선의 근상피 이외에도 장액성 선방세포에서도 관찰되는 것을 보여주며 oncocytic duct 상피는 음성임을 보여준다. 한편 근상피세포가 존재하는데도 S-100 단백질이 음성인 선양낭포성 암종의 성적은 Hara 등<sup>14)</sup>과 유사하였으나 Nakazato 등<sup>15)</sup>의 성적과는 차이가 있었다.

이러한 차이는 면역조직효소법의 방법별 예민도와 특이도의 차이와 함께 실험재료가 paraplasm 절편이라는 측

면에서 고정과 포매과정에서 온도변화로인한 일부 항원 성 물질들의 변성<sup>24)</sup> 또는 사용한 항체종류의 차이에 따른 최적표본의 판정방법이 객관적이기보다는 주관적인 판독과 관련이 있을 것으로 생각되었으며<sup>10)</sup> 선양낭포성 암종이외에도 동일한 다형성 선종의 근상피세포의 반응 양상이 음성에서부터 강양성에까지 다양하였음이 이를 뒷받침한다고 하겠다.

### 결 론

각종 타액선 종양의 종양종류별 S-100 단백질의 존재유 무와 분포양상을 관찰코자 ABC법을 이용한 면역조직화 학적 염색을 시행하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

- 1) 정상 타액선에서 근상피세포, 장액성선방세포, 신경조직등은 S-100 단백질 양성이었다.
- 2) 타액선 종양중 가장 강한 S-100 단백질 양성은 다형성선종에서 관찰되었으며 이러한 양성반응은 상피부인 근상피세포피나 판이외에도 간질성 화생부인 연골부, 점액성 변성부, 그리고 편평상피성 상피화생부에서 보였다.
- 3) 관성선종, 장액성 선방세포종에서도 S-100 단백질 염색상 양성반응이 관찰되었으며 점액성 표피양종양에서는 표피양상피세포부에서만 양성반응이 관찰되었다.
- 4) 선임파종과 선양낭포성암종에서는 S-100 단백질 염색에 음성이었다.

### REFERENCES

- 1) Moore BW: A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun* 19: 739, 1965
- 2) Yamaguchi H: Studies on the immunohistochemical localization of S-100 and glial fibrillary acidic proteins in the rat nervous system and in human brain tumors. *No To Shinkei*, 32:1055, 1980
- 3) Stefansson K, Wollmann RL, Moore BL, Arnason BGW: S-100 protein in human chondrocytes. *Nature* 295:63, 1982
- 4) Kahn HJ, Marks A, Thom H, Baumal R: Role of antibody to S-100 protein in diagnostic pathology. *AJCP* 79:341, 1983
- 5) Coones AH, Kaplan MH: Localization of antigens in tissue cells, II. Improvement in a method for the

- detection of antigen by means of fluorescent antibody. *J Exp Med* 91:1, 1950
- 6) Nakane PK, Pierce BG Jr: Enzyme-labeled antibodies preparation and application for the localization of antigens. *J Histochem Cytochem* 14:929, 1966
- 7) Sternberger LA, Hardy PH Jr, Cuculis JJ, Meyer HG: The unlabeled antibody-enzyme method of immunocytochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antiperoxidase) and its use in identification of spirochetes. *J Histochem Cytochem* 18:315, 1970
- 8) Hsu SM, Raine L, Fanger H: A comparative study of the PAP method and avidin-biotin-complex method for studying polypeptide hormones with radioimmunoassay antibodies. *Am J Clin Pathol* 75:734, 1981
- 9) Hsu SM, Raine L, Fanger H: The uses of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 29:577, 1981
- 10) 정상우, 신종희, 최 찬 : Immunohistochemistry에 있어서 peroxidase-antiperoxidase 법과 biotin-avidin system법의 비교 검토. *대한병리학회지* 17:412, 1983
- 11) Thackray AC, Lucas RB: Tumors of the major salivary glands. Fascicle 10, *Atlas of tumor pathology*. Washington AFIP 1974
- 12) Nakazato Y, Ishizeki J, Takahashi K, Yamaguchi H, Kamel T, Mori T: Localization of S-100 protein and glial fibrillary acidic protein-related antigen in pleomorphic adenoma of the salivary glands. *Lab Invest* 46:621, 1982
- 13) Nakajima T, Kameya T, Watanabe S, Hirota T, Sato Y, Shimosato Y: An immunoperoxidase study of S-100 protein distribution in normal and neoplastic tissues. *Am J Surg Pathol* 6:715, 1982
- 14) Hara K, Ito M, Takenchi J, Iijima S, Endo T, Hidaka H: Distribution of S-100 protein in normal salivary glands and salivary gland tumors. *Virchows Arch Pathol Anat* 401:237, 1983
- 15) Nakazato Y, Ishida Y, Takahashi K, Suzuki K: Immunohistochemical distribution of S-100 protein and glial fibrillary acidic protein in normal and neoplastic salivary glands. *Virchows Arch Pathol Anat* 405:299, 1985
- 16) Boenish T: Reference guide series 1, PAP/Immunoperoxidase. DAKO Corp Santa Barbara 1980,



pp 14

- 17) Taylor CR: *The nature of Reed-Sternberg cells and other malignant cells. Lancet* 2:802, 1974
- 18) Taylor CR: *An immunological study of follicular lymphoma, reticulum cell sarcoma and Hodgkin's disease. Europ J Cancer* 12:61, 1976
- 19) Mylius EA: *The identification and the role of the myoepithelial cell in salivary gland tumors. Acta Pathol Microbiol Scand* 50 (Suppl. 139):1, 1960
- 20) Hubner G, Klein HJ, Kleinsasser O, Schiefer HG: *Role of myoepithelial cells in the development of salivary gland tumours. Cancer* 27:1255, 1971
- 21) Shirasuna K, Sato M, Miyazaki T: *A myoepithelial cell line established from a human pleomorphic adenoma arising in minor salivary gland. Cancer* 45: 297, 1980
- 22) Willis RA: *Pathology of Tumours, Ed 3, London, Butterworths, 1960, p 322*
- 23) Doyle LL, Lynn JA, Panopio IT, Crass G: *Ultrastructure of the chondroid regions of benign mixed tumor of salivary gland. Cancer* 22:225, 1968
- 24) Warke R: *Alteration of immunoglobulin-bearing lymphoma cells by fixation. J Histochem Cytochem* 27:1195, 1979

— Abstract —

## Immunohistochemical Study of S-100 Protein in Salivary Gland Tumors

Hyun Yeung Kang, M.D., Dong Wook Ryang, M.D.  
and Joo Yong Yoo, M.D.

Department of Clinical Pathology,  
Chonnam University Medical School, Kwang-ju, Korea

An immunohistochemistry for S-100 protein by biotin avidin system technique was done to evaluate the existence and distribution pattern of S-100 protein positive cells in various tumors of salivary gland.

The results obtained were as follows.

1) Positive immunostaining for S-100 protein was observed in myoepithelial cell, serous acinar cell and nervous bundle in normal salivary gland.

2) Strong immunoreactivity for S-100 protein was shown in pleomorphic adenoma, which was localized not only in myoepithelial cord or sheets of epithelial portion but also in chondrocytes, stellate cells of myxoid stroma and in squamous keratin pearl of mesenchymal metaplastic foci.

3) The S-100 protein was demonstrated in the tumor cells of tubular adenoma, acinic cell tumors and in epidermoid area of mucoepidermoid tumors.

4) Immunoreactivity for S-100 protein, however, was not found in the tumor cells of adenoid cystic carcinoma and adenolymphoma except for stroma reticulum cells.

5) Intensity of positive reaction for S-100 protein varied from cell to cell: Some had intense immunoreactivity, whereas others were only weakly positive or completely negative, even in myoepithelial cell nest of the same pleomorphic adenoma.

### Figure legend

- Fig. 1A.** Majority of serous acinar cells are shown to be negative to S-100 protein stain. Weakly positive reaction, however, is shown in myoepithelial cells. Normal  $\times 40$
- Fig. 1B.** Adipose tissue shows negative reaction for S-100 protein stain. Normal  $\times 100$
- Fig. 1C.** Strong positive reaction is shown in peripheral nervous bundles of salivary gland. Normal  $\times 100$
- Fig. 2.** Strong positive reaction of S-100 protein are shown in myoepithelial sheets or patch, but majority of myoepithelial cells are shown to be negative for S-100 protein. Pleomorphic adenoma  $\times 100$
- Fig. 3A.** Foci of cartilagenous metaplasia shows the moderate to strong positive reaction for S-100 protein stain. Pleomorphic adenoma  $\times 100$
- Fig. 3B.** Majority of metaplastic immature cartilage cells, however, shows the negative to faint stain for S-100 protein. Pleomorphic adenoma  $\times 100$
- Fig. 4A.** Moderate to strong positive reaction for S-100 protein stain is shown in keratinized pearl and horn cyst. Pleomorphic adenoma  $\times 100$
- Fig. 4B.** The same finding as shown in Fig. 4A. Pleomorphic adenoma  $\times 100$
- Fig. 5A.** Epithelial component of adenolymphoma shows the negative reaction for S-100 protein stain. Adenolymphoma  $\times 200$
- Fig. 5B.** Moderate to strong positive reaction for S-100 protein stain was shown in reticular dendritic cells of lymphoid follicles in adenolymphoma. Adenolymphoma  $\times 200$
- Fig. 6.** Majority of serous acinar cells show the negative reaction for S-100 protein stain except for weakly positive reaction in myoepithelial cells. Acinic cell tumor  $\times 200$
- Fig. 7.** Weak to moderate positivity for S-100 protein is shown in squamous cell nest and scattered myoepithelial cells. Mucoepidermoid carcinoma  $\times 100$
- Fig. 8.** Majority of tumor cells show the negative reaction except for non-specific weak reaction in secreta. Adenoid cystic carcinoma  $\times 200$





