

난소 점액성 종양에 대한 Peanut Agglutinin의 결합능

서울대학교 의과대학 병리학교실

송 형 근 · 김 철 우

서 론

난소의 상피성 종양에 있어서는 낭선종과 낭선암종의 중간단계로 예후가 비교적 좋은 경계영역종양(border-line tumor)에 대한 논의가 계속되어 왔다. 1973년 Hart와 Norris는 난소의 점액성 종양에 대하여 핵의 중첩도와 종양세포의 실질 내 침윤을 조직학적 진단기준으로 하여 낭선암종과 경계영역종양의 예후에 크게 차이가 있음을 지적하고 이들 감별진단의 중요성을 강조하였다^{1,2}. 그러나 대부분 난소의 점액성 종양은 종괴의 크기가 크고 충분한 숫자의 조직절편을 통한 병리학적 검사에서도 종양세포의 실질내 침윤은 관찰하기 힘든 예가 많다. 따라서 이런 경우 핵의 중첩도 및 선 사이클 지지해주는 결체조직의 유무가 악성도를 판별하는 기준이 되기는 하나 객관적인 판단이 힘든 경우도 생기게 되어 문제가 되고 있다^{3,4}. 한편 식물성 lectin의 일종인 *Arachis hypogaea* (peanut agglutinin, PNA)는 이 당류인 B-D-Gal(1→3)-D-Gal Nac과 특이한 결합을 나타내는데 이는 Thompson-Friedenreich antigen(T-Ag)의 항원성 구조와 상응하는 것으로 알려져 있다⁵. 또한 종양성 점막에서 분비되는 점액은 정상 점액과 화학적 성상에 차이가 생긴다는 점이 알려져 있고 이를 바탕으로 한 연구들에서 유방⁶, 대장^{6,7} 및 방광⁸ 등에서 발생한 암종의 종양 상피세포들이 T-Ag을 나타내게 되며, 이는 PNA에 의해 특이하게 결합됨으로써 각종 종양세포들에 대한 PNA의 결합능의 연구가 활발하게 진행되고 있다. 따라서 저자들은 난소의 점액성 종양에 대한 PNA 결합능을 관찰하여 점액성낭선암종과 경계영역 종양의 생물

학적 특성의 차이를 밝혀 그들의 감별진단에 도움을 줄 수 있는지 확인하기 위해 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

재 료

검색 재료는 서울대학병원 병리과에서 1980년부터 1985년 사이에 검색된 난소종양 중 점액성경계영역종양과 점액성낭선암종으로 진단된 총 23예를 대상으로, 점액성낭선종 5예를 대조군으로 선택하였다.

방 법

1) 광학현미경적 관찰 : 대상군에 대한 병리조직학적 관찰로서 조직채취 후 10% 중성 formalin 용액에 고정하고 일상 탈수과정을 거쳐 paraffin 포매하여 4~5 μ m의 두께로 박절, 건조 및 탈 paraffin 과정을 거치고 hematoxylin-eosin 중복염색을 시행하여 광학현미경으로 관찰하였다. 임상소견은 환자의 병록지를 참고하였고 병리조직학적 분류는 Hart와 Norris (1973)¹가 제시한 진단기준을 적용하여 재검색하였다.

2) 대상군 및 대조군에 대한 면역조직화학적 검색 : 대상군 23예와 대조군 5예에 대하여 peanut agglutinin (PNA)을 사용한 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 염색은 Hsu(1981)⁹ 등의 avidin-biotin peroxidase complex (ABC) 방법을 이용하였다. 이를 간단히 요약하면 증례별로 병변을 대표할 수 있는 1개 내지 2개의 paraffin block을 선택하여 5 μ m 크기로 박절하고 건조시킨 후 탈 paraffin 과정을 거쳤다. 이들을 methanol-H₂O₂ 용액(100% methanol 200 mL + 30% H₂O₂ 5 mL)에 20분간 처치(incubation)하여 세포 내의 내인성 peroxidase 활성화를 저지 시킨 다음 non-immune 돼지혈청을 첨가하여 20분간 처치함으로써 비특이성 반응을 억제시켰다. 다

* 본 논문의 요지는 1986년 10월 17일 대한병리학회 제 38차 추계학술대회에서 발표되었음

** 본 연구는 1986년도 서울대학교병원 특진 연구비의 보조로 이루어졌음.

음 단계로 biotinylated PNA를 Tris 완충액 (pH 7.6) 으로 희석(100 µg/mL)하여 첨가하였으며 40분간 처치 하였다. 다음 Tris 완충액 100 mL 당 avidin과 biotin 및 peroxidase 용액을 각각 2 drop씩 혼합시켜 avidin-biotin peroxidase complex를 제조하여 첨가하고 40분간 처치하였다. 마지막으로 기질인 H₂O₂-aminoethyl carbazole 침액을 도포하고 10분간 처치하였다. Biotinylated peanut lectin 및 ABC kit는 Vector 회사 (Burlingame, Calif.) 제품을 사용하였다. 각 단계와 단계 사이에 15분간씩 Tris 완충액 (pH 7.6) 에 담그어 각 단계에서 유발될 수 있는 비특이성 결합을 제거하였다. 이와같은 면역조직화학염색은 실온에서 시

행하였고 염색과정이 끝난 후 Meyer's hematoxylin을 사용하여 핵에 대한 대조 염색을 하였다. Glycerol gelatin으로 cover glass를 glass slide에 견고히 부착시켜 영구보존이 가능토록 하였다.

결 과

1. 병리조직학적 소견 및 임상추적 경과

Hart와 Norris에 의한 조직학적 진단기준에 따라 23 예를 병리조직학적으로 재분류한 결과 점액성낭선암종 10예, 경계영역종양 9예 및 복막가성점액종 4예로 구분 되었다(Table 1).

Table 1. Case summary of malignant mucinous tumors in this study

Cases	Age	Sex	Stromal invasion	Cellular atypism	Stratification	Follow up	Comment	PNA binding
Mucinous cystadenocarcinoma								
1	23	F	D	mod.	2-3	1 yr.	chemo.	+++
2	72	F	D	mod.	3-4	2 mos.	chemo.	+++
3	41	F	D	marked	2-3	1 yr.	chemo.	+++
4	27	F	D	marked	2-3	1 yr.	chemo.	++
5	26	F	h.s.	mild	2-3	2 mos.	chemo.	+++
6	74	F	h.s.	mod.	2-3	4 mos.	chemo. recur	+++
7	70	F	h.s.	mild	2-3	3 yrs		+++
8	25	F	h.s.	mod.	2-3	N. D.		++
9	47	F	h.s.	mild	2-3	2 mos.	metast. liver & L/N	+
10	38	F	-	mild	3-4	N. D.		++
Mucinous tumor of borderline malignancy								
11	32	F	-	mild	2-3	4 yrs.	pleural eff. & ascites	+++
12	82	F	-	mild	2-3	N. D.		+++
13	22	F	-	mild	2-3	N. D.		+++
14	57	F	-	mild	2-3	2 mos.		+
15	70	F	-	mild	2-3	3 yrs.		+
16	67	F	-	mild	2-3	N. D.		+
17	29	F	-	mild	2-3	N. D.		+
18	22	F	-	mild	2-3	N. D.		+
19	26	F	-	mild	2-3		torsion sepsis	+
Pseudomyxoma peritonei								
20	63	F	h.s.	mild	2-3	2.3 yrs.	recur-death	++
21	62	F	h.s.	mild	2-3	1.3 yrs.	recur	++
22	70	F	h.s.	mild	2-3	1.2 yrs.	recur	++
23	71	F	h.s.	mild	2-3	N. D.		++

D : definitive, h.s. : highly suggestive, mod. : moderate, yr. : year, mos. : months, N. D. : not done. chemo. : chemotherapy, metast. : metastasis. eff. : effusion



Fig. 1. A case of mucinous cystadenocarcinoma with definitive stromal invasion by neoplastic glands. Lining epithelial cells reveal diffuse positive bindings (+++) in PNA. (Immunoperoxidase, PNA, x100).

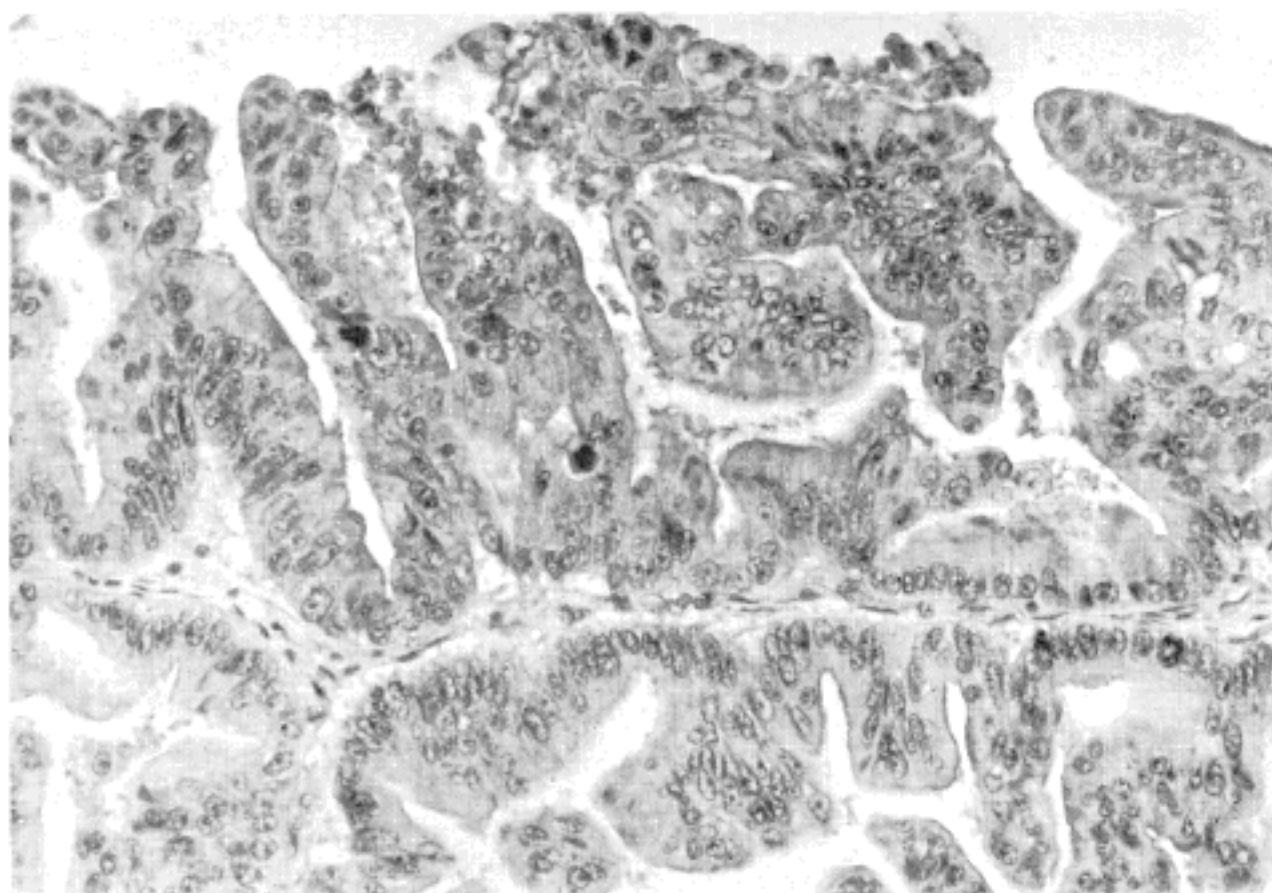


Fig. 2. Mucinous cystadenocarcinoma, showing papillary growth pattern with multicellular stratification with moderate degree of cellular atypism. Diffuse positive bindings (+++) in PNA is noted. (Immunoperoxidase, PNA, x400)

선암종은 종양세포의 실질 내 침윤이 뚜렷하거나, 3층 이상의 핵중첩도를 보이며 선(gland)사이의 결체조직이 관찰되지 않는 경우로 했다. 분류는 전체중 분화가 제일 좋지 않은 곳을 기준으로 하였다. 낭선암종 중 실질 침윤이 분명한 예는 4예였고, 5에는 실질 침윤이 강력히 의심되는 부위가 국소적으로 있었으며 1예에서는 3층에서

4층의 핵중첩도와 심한 정도의 비정형성 세포를 보였으면 실질 침윤은 관찰되지 않았다. 이들 중 8예에서 수술 후 2개월~3년의 추적이 가능하였는데 1예에서 2개월 만에 간 및 경부 림프절에 전이가 확인되었고 1예에서는 4개월 만에 재발되었다. 9예의 경계영역종양은 2~3층의 핵중첩도를 보이고 종양세포의 실질조직에 대한 침윤은

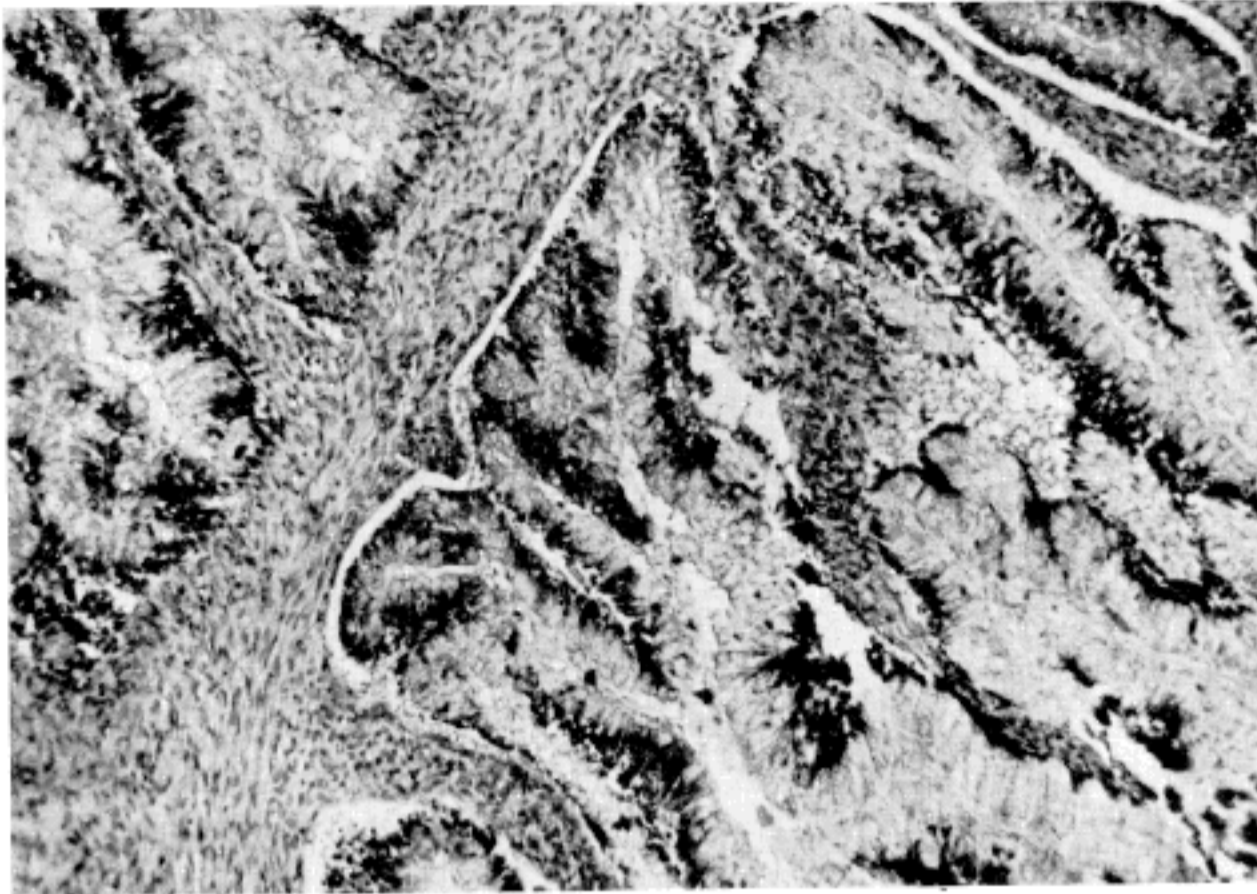


Fig. 3. Mucinous tumors of borderline malignancy, showing papillary growth pattern with cellular stratification. Diffuse positive bindings (+++) in PNA is seen. (Immunoperoxidase, PNA, x100)

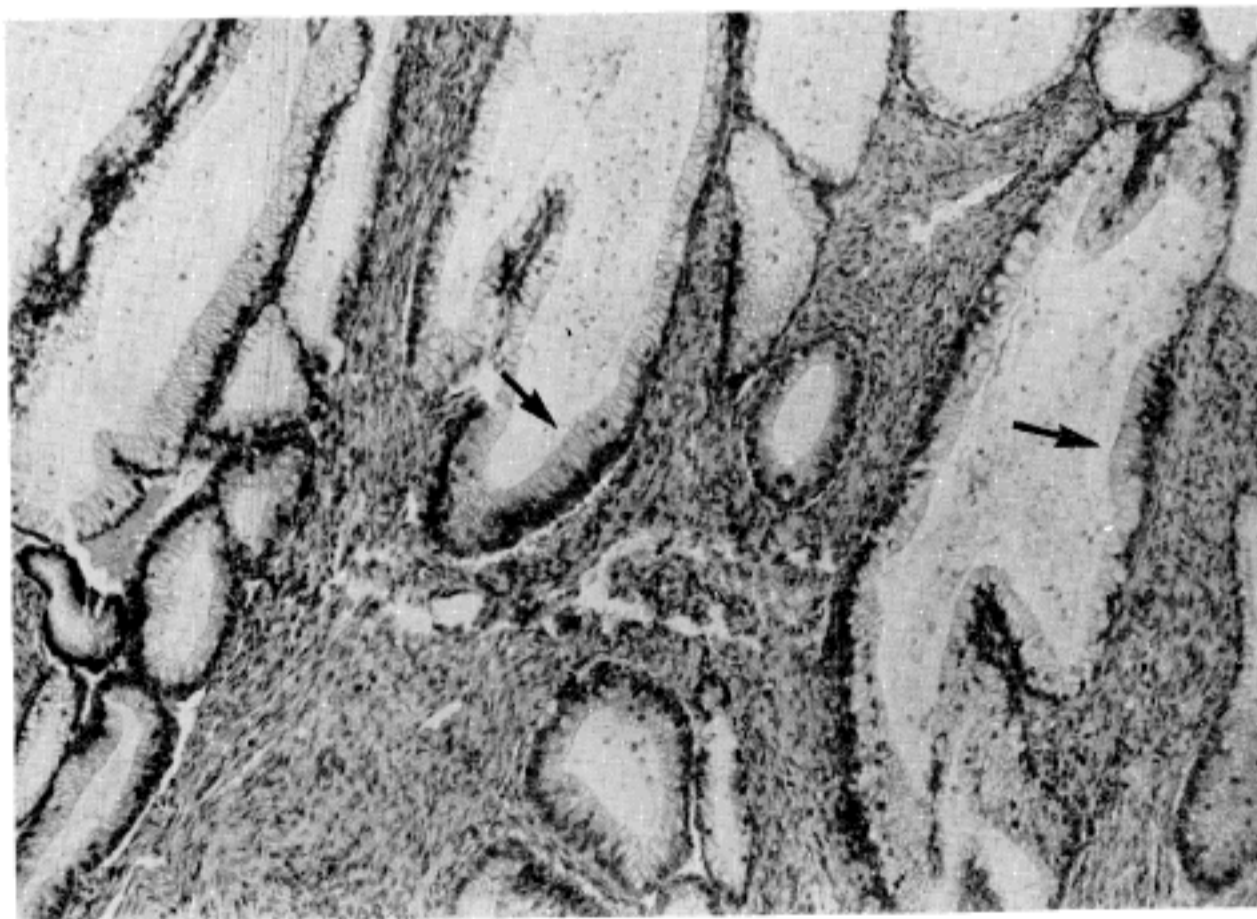


Fig. 4. Mucinous tumor of borderline malignancy, showing focal positive bindings (+) in PNA (arrow). (Immunoperoxidase, PNA, x100)

관찰되지 않았으며 부위에 따라 세포의 비전형성을 찾을 수 있었다. 이들 중 4예가 추적 가능하였는데 3예에서 수술 후 2개월 내지 4년간 특이 소견 없었고 1예는 종양 수술시 종괴의 비꼬임(torsion)과 패혈증으로 전신상태가 불량한 채로 퇴원하였다. 복막가성점액종의 경우 종양 자체는 경계영역종양의 조직학적 소견과 유사하였으나 유

출된 점액 내에 종양세포군이 포함됨을 4예 모두에서 관찰할 수 있었고 임상소견상 추적된 3예 모두 재발됨을 확인할 수 있어 따로 분류하였다.

2. 면역조직화학적 소견

Lectin에 대한 면역조직화학적 염색의 판독기준으로는

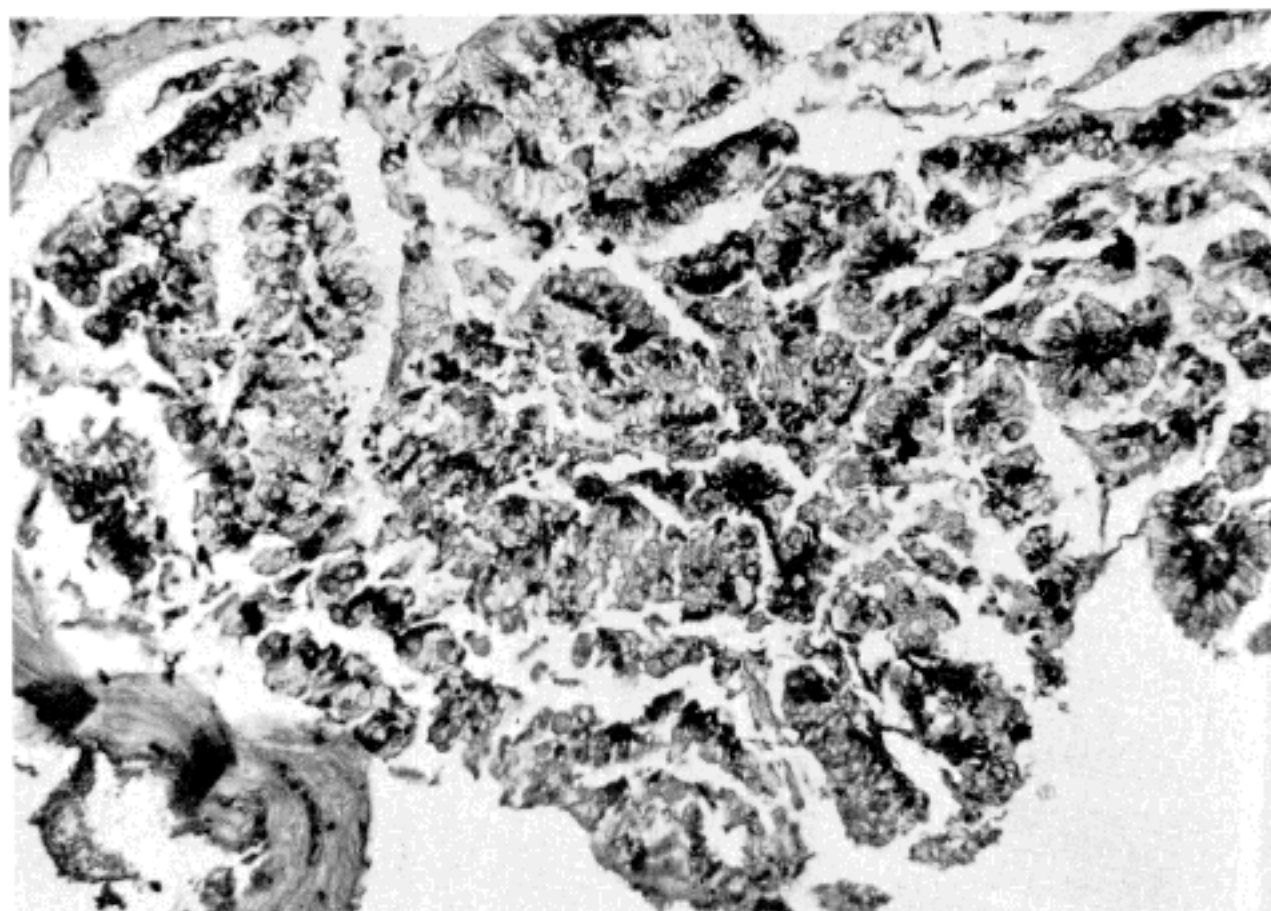


Fig. 5. Pseudomyxoma peritonei, showing detached tumor cell nests in abundant mucin leakage. Tumor cells and mucin reveal moderate degree of PNA positive bindings (++) (Immunoperoxidase, PNA, x200).

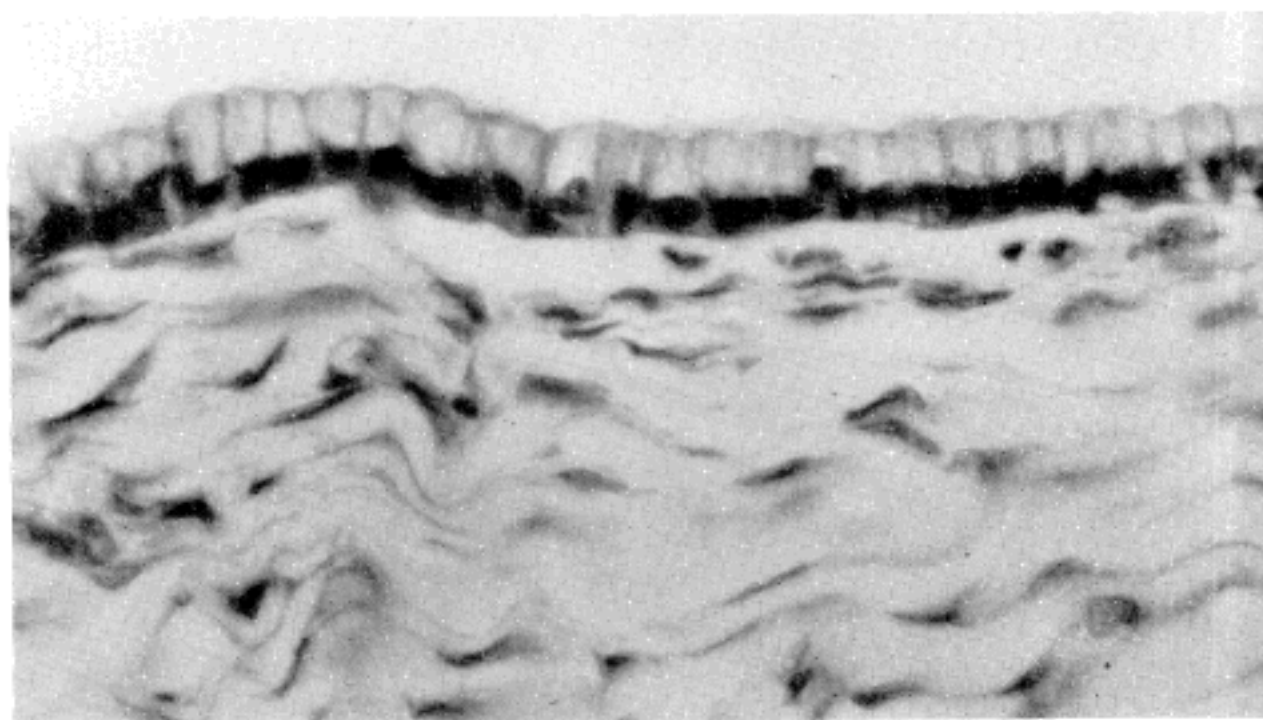


Fig. 6. Mucinous cystadenoma, showing negative binding (-) in PNA, (Immunoperoxidase, PNA, x400).

염색이 시행된 표본중 양성 반응을 보인 종양성 상피세포의 분포 영역을 백분율로 계산하여: 음성 (-): 10% 미만, 양성은 국소성 (+): 10~40%, 중등도(♯): 40~70%, 미만성(≡): 70~100% 등으로 염색도를 나누어 판독하였다. 양성반응을 보인종양세포는 세포질 내에 미만성으로 흩어진 갈색 과립의 염색 반응을 보였다.

1) 점액성 낭선암종: 실질 침윤이 분명하게 관찰되었던 4예 중 3예는 미만성(≡)(Fig. 1), 나머지 1예는 중등도(♯)의 양성소견을 보였으며, 실질 침윤이 국소적으

로 의심되며 2~3층의 핵중첩도를 보였던 5예중 3예가 미만성(≡)(Fig. 2), 1예가 중등도(♯), 나머지 1예가 국소성(+)의 양성소견을 보였다. 실질 침윤은 관찰되지 않았으나 4층 이상의 핵중첩도와 종양세포의 이형성을 보였던 1예는 중등도(♯)의 양성소견을 보였다.

2) 점액성 경계영역종양: 9예 중 3예는 미만성 양성(≡) 소견(Fig. 3)을 나머지 6예는 국소성 양성(+) 소견(Fig. 4)을 나타냈다.

3) 복막가성점액종: 점액 pool내에 부유하고 있는 종

양세포 수가 적어 판정하기 힘들었으나 4예 모두 중등도 (#)의 양성소견(Fig. 5)을 확인할 수 있었고 주변의 점액에도 부분적으로 양성반응을 나타냈다.

4) 대조군 : 5예의 낭선종은 모두 음성 (-)의 소견(Fig. 6)을 나타내었다.

고 찰

본 연구에서 대조군인 점액성낭선종 5예는 PNA에 대해 모두 음성반응을 보인데 반해 경계영역종양으로부터 낭선암종까지 정도의 차이는 있지만 23예 모두에서 양성 소견을 보인 점은 종양세포의 분화 정도 및 악성화 소견과 PNA의 반응 현상이 밀접한 연관이 있음을 보여준다 하겠다. 하지만 PNA 반응정도가 경계영역종양과 낭선암종에서 일정치 않으므로 각 증례에 따른 해석의 필요성을 느낀다. 먼저 낭선암종에서 실질 침윤이 명백한 4예 중 3예는 (#), 나머지 1예는 (#)의 PNA 양성소견을 보였다. 실질 침윤이 강력히 의심되고 종양세포의 이형성이 자주 관찰된 5예 중에서는 3예가 (#), 1예가 (#), 나머지 1예가 (+)의 소견을 보였다. 마지막 낭선암종 1예는 세포의 이형성이나 실질에의 침윤은 발견되지 않았지만 종양세포의 배열층 수가 3~4열 이상이었다 예로서 PNA에 (#)의 양성반응을 보였다. 즉 10예중 6예에서 미만성 (#), 3예에서 중등도 (#), 그리고 1예에서 국소성 (+)의 양성 반응을 나타내었다. PNA에 국소성 양성 (+) 반응을 보인 예 (증례 10)는 환자의 추적 조사결과 수술 후 약 2개월 만에 간 및 경부 림프절에 전이됨이 확인되었고 경부 림프절의 병리조직검사 소견은 난소의 원발 종양과 유사한 점액성 선암종으로 원발 종양에 비하여 보다 분화가 좋지 않아 종양세포의 이형성이 심하고 세포질 내의 점액 성분이 풍부하지 않음을 관찰할 수 있었다. 원발 종양의 재검색에서도 역시 다른 선암종 증례들에 비하여 세포질 내의 점액성분이 적음을 알 수 있었다. 따라서 이 증례에 있어서 PNA에 종양세포가 (+)의 반응을 보임은 종양세포의 이형성은 심하지 않지만 점액 성분을 분비하는 능력은 감소한 것으로 보아 역분화(dedifferentiation) 과정 중의 세포로 생각해 볼 수 있고 이러한 현상은 대장암, 방광암 등에서 여러 저자들에 의해 지적되었다⁶⁻⁸⁾. 또한 이때의 음성 반응이 정상세포 혹은 양성종양 세포에서의 PNA 음성반응과 다른점은 정상세포 등은 대개 neuraminidase를 처

리하면 잠복성 항원이 노출되면서 PNA 음성세포가 양성으로 반전되는데 반해 악성종양 세포는 neuraminidase 처리에도 불구하고 계속 PNA에 음성반응을 보인다는 점이다^{5,9)}.

한편 경계영역종양은 9예중 3예에서 미만성 양성 (#) 소견을 그리고 6예에서 국소성 양성 (+) 소견을 보여 비교적 명확히 2 그룹으로 구분됨을 알 수 있었다. 불행히도 많은 예를 추적 조사하진 못 하였지만 미만성 양성 (#) 그룹 중 1예 (증례 11)는 수술 후 4년 경과 후 확실한 전이의 증거없이 복수 (ascites)와 흉수 (pleural effusion)가 발생하였다. 국소성 양성 (+) 그룹중에는 2예 (증례 14와 15)를 2개월 및 3년 정도 추적할 수 있었는데 특기할 소견없이 예후가 양호하였다. 이상의 결과만으로는 경계영역종양 중 PNA 양성 반응도에 현격한 차이를 나타낸 2 그룹 사이에서 임상 및 병리조직학적 소견의 차이점을 찾기는 힘들다. 그리고 이와 유사한 증례들이 첨가되고 많은 예들에서 추적조사가 이루어져야 이에 대한 해석이 가능해지리라 본다. 다만 난소의 점액성 종양들도 장 화생(intestinal metaplasia)¹⁰⁾이 선행되어 종양성 증식이 이루어졌다면 Boland 등¹¹⁾이 대장의 선종들에서, 또는 김 등¹²⁾이 충수의 점액성 종양 중 일부 예에서 이와 유사한 소견을 지적한 바와 같이 PNA의 양성 반응도가 종양세포의 악성화 소견과 어느 정도 비례할 것으로 보아 경계영역종양 중 PNA에 미만성 양성 (#)을 보인 예들은 국소성 양성 (+)을 보인 예들에 비하여 보다 많은 조직절편의 검색이 요구되고 임상적으로도 긴밀한 추적 조사가 필요할 것으로 사료된다. 또한 경계영역종양 예에서 종양세포의 형태학적 비전형성에 앞서 그들 세포 내의 점액 성분이 선암종의 점액 성분과 유사한 생물학적 성상을 나타낼 가능성도 추정해 볼 수 있겠다.

복막가성점액종 4증례들에서는 모두 중등도 (#)의 일치된 양성소견을 보였는데 이들 모두 풍부한 점액 pool 내에 소수의 종양세포들이 함몰되어있는 조직학적 소견이 특징이고 4예 중 3예에서 수술 후 국소적인 재발이 일어난 점등을 보면 점액성낭선암종이나 경계영역종양과는 구별되는 생물학적 특성을 지닌 것으로 생각된다. 이는 다른 보고들¹³⁾에서도 지적되었듯이 원격전이는 흔하지 않지만 국소재발에 따른 여러 합병증이 뒤따를 수 있어 임상적으로 점액성낭선암종이나 경계영역종양과는 다른 처치 및 예후 측정이 이루어져야 하리라 본다.

결 론

난소의 점액성 종양에 대한 peanut agglutinin (PNA) 결합능의 관찰이 점액성낭선암종 (mucinous cystadenocarcinoma)과 점액성경계영역종양 (mucinous tumor of borderline malignancy)의 감별진단에 도움을 줄 수 있는지를 확인하기 위하여 서울대학병원에서 1980년에서 1985년 사이에 진단된 23예의 악성 난소 점액성종양에 대해 avidin-biotin-peroxidase법을 이용한 면역조직화학법으로 PNA lectin의 염색을 시행하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

1) 기존증례를 slide section과 병록지의 재검색을 통하여 병리조직학적으로 재분류한 결과 점액성낭선암종이 10예, 경계영역종양 9예, 그리고 복막가성점액종이 4예였다.

2) 점액성낭선암종 10예중 6예에서 미만성 양성 (#), 3예에서 중등도 양성 (+), 그리고 1예에서 국소성 양성 (+)을 보였다.

3) 경계영역종양 9예중 3예에서 미만성 양성 (#), 6예에서 국소성 양성 (+)을 보였다.

4) 복막가성점액종 4예에서는 모두 중등도 양성 (+)을 보였다.

5) 대조군인 점액성낭선종 5예는 모두 음성 (-) 소견을 보였다.

이상의 연구성적을 종합하여 보면 점액성낭선암종이나 경계영역종양 예들에서 기존 광학현미경적 진단기준과 PNA lectin의 결합 반응도가 완전히 일치하지는 않는다. 하지만 경계영역종양들 중 특히 실질 내 종양세포의 침윤이 불분명한 예들의 경우에 PNA의 결합능이 그 종양의 악성도를 측정하고 예후를 추정하는데 보완적으로 사용 가능할 것임을 시사해 주었다.

참 고 문 헌

- 1) Hart WR, Norris HJ: Borderline and malignant mucinous tumors of the ovary. Histologic criteria and clinical behavior. *Cancer* 31:1031-1045, 1973
- 2) Hart WR: Ovarian epithelial tumor of borderline malignancy. (Carcinomas of low malignant potential). *Human Pathol* 8:541, 1977

- 3) Aure JC, Hoeg K, Kolstad P: Clinical and histologic studies of ovarian carcinoma. Long-term follow-up of 990 cases. *Obstet Gynecol* 37:1-9, 1971
- 4) Chaitin BA, Gershenson DM, Evans HL: Mucinous tumors of the ovary. A clinicopathologic study of 70 cases. *Cancer* 55:1958-1962, 1985
- 5) Springer GF, Desai PR, Murthy MS, Yang HJ, Scanlon EF: precursors of the blood group MN antigens as human carcinoma associated antigens. *Transfusion* 19:233-249, 1979
- 6) Boland CR, Montgomery CK, Kim YS: Alteration in human colonic mucin occurring with cellular differentiation and malignant transformation. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:2051-2055, 1982
- 7) Cooper HS: Peanut lectin binding sites in large bowel carcinoma. *Lab Invest* 47:383-389, 1982
- 8) Coon JS, Weinstein RS, Summers JL: Blood group precursor T-antigen expression in human urinary bladder carcinoma. *Am J Clin Pathol* 77:692-699, 1982
- 9) Hsu SM, Raine L, Fanger H: The use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase technique. A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedure. *J Histochem Cytochem* 29:577-580, 1981
- 10) Fenoglio CM, Ferenczy A, Richart RM: Mucinous tumors of the ovary. Ultrastructural studies of mucinous cystadenomas with histogenetic consideration. *Cancer* 36:1709-1722, 1975
- 11) Boland CR, Montgomery CK, Kim YS: A cancer associated mucin alteration in benign colonic polyps. *Gastroenterology* 82:664-672, 1982
- 12) Kim CW, Kim YI: Lectin binding activity in appendiceal mucocele. *Am J Clin Pathol* (in press, 1988)
- 13) Shanks HGI: Pseudomyxoma peritonei. *J Obstet Gynaecol Brit Emp* 68:212-224, 1961

— Abstract —

Peanut Agglutinin Binding Activity in Ovarian Malignant Mucinous Tumors

Hyung Geun Song, M.D. and Chul Woo Kim, M.D.

Department of Pathology, College of Medicine
Seoul National University

The positive binding activity of lectin, peanut agglu-

lutinin (PNA), against the mucinous malignancies of the ovary was studied in order to clarify biologic differences among those lesions using immunoperoxidase method (ABC). A total of 23 cases were included in this study and they were classified as 10 cases of mucinous cystadenocarcinoma, 9 mucinous tumors of borderline malignancy and 4 pseudomyxoma peritonei, histologically. Nine of 10 cystadenocarcinomas and all cases of pseudomyxoma peritonei showed more than moderate degree of positive binding activity ($>2+$) with PNA in the neoplastic epithelial cells. In the cases of borderline malignancy, only 3 of 9 revealed as much similar binding pattern with PNA as cystadenocarcinoma group, in

contrast, minimal degree of positivity ($1+$) was noted in the remainder.

These findings may suggest heterogeneity in the biochemical characteristics among the cases of borderline lesion. And it is proposed that the higher PNA binding cases in ovarian mucinous borderline malignancy require extensive sampling by multiple sections and further careful follow-up study.

Key Words: Peanut agglutinin
Mucinous tumor
Ovary tumor