대한병리학회지 : 제22권 제 1 호
K.J. Pathol., Vol. 22(1): 42, 1988

침윤성 유관암에 있어서 실질세포와 간질 접합부의 형태학적 변화

—근상피세포, 기저막, 간질섬유모세포에 대한 면역조직화학적 및 초미세형태학적 관찰—

전남대학교 의과대학 병리학교실

이 민 철

서 론

악성종양의 성장과정에서 관찰되는 중요한 특징은 침윤성 증식[1]과 전이[2]이다. 상피세포 기원의 암종은 상피세포와 간질사이에 있는 기저막의 손상을 유발하여 침윤성 증식을 하며 간질과 혈관 사이에 있는 기저막의 손상을 초래하여 전이를 한다[3]. 악성종양의 침윤성 증식과 전이에 대한 기전은 아직도 확실히 규명되어 있지 않지만 증식된 종양세포에 의한 기저막의 압박[3], 종양세포에서 기저막을 파괴하는 여러가지 효소분비[4], 종양세포간의 결합력 감소[5], 종양세포의 운동성 증가[6] 및 서로 다른 조직과 접촉시에도 성장이 가능[7]하기 때문이라고 설명하고 있으며, 생화학적, 면역학적, 형태학적 분야 등에서 연구가 계속되고 있다.

악성종양의 침윤성 증식과 전이에 대한 형태학적 연구는 일반적으로 발생 빈도가 높고, 또한 기저막의 손상을 비교적 용이하게 관찰할 수 있는 위장관암[8]과 자궁경부암[9~10]등에서 많이 보고되고 있으며, 근래에는 특히 간질조직의 변화에 대한 연구[11~13]도 활발하게 진행되고 있다. 유방암의 침윤성 증식에 대한 형태학적 연구는 조직학적으로 다른 상피세포 기원의 암종과는 달리 Ozzello[14]가 기술한 상피세포 하방에 존재하는 근상피세포, 기저막 및 주위를 싸는 섬유모세포로 구성되는 상피세포와 간질 접합부를 서로 연관지어 관찰할 수 있다는 점에서 많은 연구가 진행되어 왔다.

침윤성 유관암에서 보고된 이들의 내용을 요약하면 다음과 같다. 첫째, 근상피세포는 유관선암종에서는 관찰되지 않았다는 설[15], 경성유관암종의 기원이 된다는 설[16], 유관암의 원발부위 및 임파결절의 전이소에서 정상 세포로 관찰된다는 설[17], 침윤성 증식 때 간질의 근섬유세포로 전환된다는 설[18]등이 보고되고 있다. 둘째, 기저막은 어떤 종양이든지 침윤성 증식을 할 때 파괴된다는 것은 주지의 사실이나 침윤성 증식을 하는 종양에서도 일정하지는 않지만 기저막은 관찰된다[19]. 또한 최근에는[3,19-21] 기저막의 생화학적 구성성분이 밝혀지면서 각 성분에 대한 면역화학적 검색이 활발히 시행되고 있어서, 기저막 관찰에 대한 특이성을 한층 높이고 있다. 셋째, 간질의 섬유모세포는 유방의 섬유낭종증[14] 및 비침윤성 유관암[22]에서 방추체의 얇은 세포질을 갖는 섬유모세포로 존재하지만 침윤성 증식이 시작되면 근섬유세포로 변환되어[23,24] 암소를 수축시키는 역할을 한다. 그러나 근섬유세포의 기원에 대해서는 아직도 논란이 되고 있다[13,25].

따라서 침윤성 유관암에서 근상피세포의 상태, 형태의 전환 및 섬유모세포와의 관계설정은 아직도 해결되어야 할 과제이다. 그리고 기저막에 대해서는 특이성이 높은 면역조직화학적 염색이 시행되어 광학현미경적으로 판독되고 있지만 초미세형태학적 관찰에 비하면 해상력 차이가 있다고 생각된다. 이에 저자는 유관암이 침윤성 증식을 할 때 초래되는 근상피세포, 기저막과 간질섬유 모세포의 변화를 형태학적으로 추구하기 위하여 본 연구를 시도하였다.

재료 및 방법

1982년 7월부터 1985년 6월까지 전남대학교 의과대학

*본 논문의 요지는 1985년 제37차 대한병리학회 추계학술대회에서 발표하였음.
*본 연구를 지도 편달하여 주신 조규혁, 김상호, 유주용 교수님과 김용진, 김혜정의 노고에 대하여 진심으로 감사드립니다.

부속병원에서 외과적으로 절제되어 병리조직학적으로 Azzopardi[26], Gallegen[27] 등의 분류법에 의해 침윤성 유관암으로 진단된 증례 중에서 특수한 유형인 수질성, 점액성, 관상, 유두상, Apocrine성, 선양낭포암등을 제외한 일반적인 유형(not otherwise specified, NOS)으로 1개이상의 국소 임파결절에 전이를 일으킨 32예를 대상으로 하였다. 이 중에서 2예는 육종성화생을 동반하였다. 이들은 원발암소와 임파결절 전이소에서 S-100단백질에 대한 면역조직화학적 염색을 실시하였으며, 또한 원발암소의 초미세형태학적 검색을 통하여 근상피세포, 기저막 및 섬유모세포를 관찰하였다.

1. 면역조직화학적 검색

통상의 H & E 표본을 제작하기 위해 만들어진 paraffin 절편을 이용하였다. Paraffin 절편은 원발암소에서 평균 5개, 각각의 임파결절에서 1개씩 제작되었다. 면역조직화학적 검색에는 최근에 근상피세포에 특이성을 갖고 있다고 알려진 S-100단백질을 일차 항체로 이용하여 biotin과 avidin 사이의 강한 결합력을 이용한 biotin-avidin system (BAS)[28]에 의한 immunoperoxidase 방법으로 염색하였다. 각 paraffin 절편에서 약 4 μm 두께의 박절편을 만들어 xylene과 alcohol을 거쳐 증류수로 함수시켰고, 1% periodic acid 수용액으로 15분간 처치하여 조직자체의 내재성 peroxidase를 억제시켰으며, PBS (phosphate buffered saline, 10 mM, pH 7.6)로 수세하였다. 일차 및 이차항체의 비특이적 결합을 억제시키기 위하여 조직을 정상 산양 혈청에 15분간 작용시킨 후 antihuman S-100 rabbit antiserum (1 : 8000희석액, DAKO제)으로 16시간 도포하였고 PBS로 수세하였다. 산양의 biotinylated antirabbit IgG (Vector제)를 결합항체로 하여 avidin DH-biotinylated horseradish peroxidase H complex (ABC, Vector제)를 작용시킨 후 peroxidase의 기질액인 hydrogen peroxide와 발색제인 DAB (diaminobenzidine-4HCl, Sigma제)를 가하였다. Hematoxylin 대조염색 후 통상의 방법대로 탈수과정을 거쳐 canada balsam으로 봉입 후 광학현미경으로 관찰하였다. 염색할때 일차항체 대신 PBS만을 도포시킨 표본을 음성대조용으로, 암소주위의 정상 유방조직에서 S-100 protein 양성 근상피세포 및 말초신경섬유가 확인된 것을 양성대조용으로 사용하였다.

2. 초미세형학적 검색

외과적으로 절제된 원발암소의 paraffin 절편제작 부위에서 4×4×1 mm 크기의 신선한 조직을 각각 5개씩 채취하여 4℃ Karnovsky씨 용액[29]에 약 12시간 고정한 후 Millonig법[30]에 따라 cacodylate buffer로 수세하여 4℃ Millonig-osmium산 (1%)에서 1시간 동안 후고정하였다. 이들 조직편은 술식에 따라 탈수하여 Luft법[31]에 따라 propylene oxide 및 propylene oxide-epon 혼합액에 침윤하여 epon 혼합액에 포매하였다. 포매된 조직은 35℃, 40℃, 60℃ 오븐에 각각 24시간씩 방치하면서 중합시켰다.

Epon 포매절편은 1 μm 두께로 박절하여 Toluidine blue 염색을 한 후 광학현미경하에서 초미세형태학적으로 관찰하고자 하는 유관암의 침윤성 증식부위를 결정하였으며, 동부위에서 80 nm의 초박절편을 제작한 후 copper grid에 부착시켜 Reynolds법[32]에 따라 uranyl acetate와 lead citrate의 2중염색을 시행하여 JEOL 100 CX 전자현미경으로 가속전압 80 KV에서 관찰하였다.

성 적

1. 근상피세포

S-100단백질에 대한 면역조직화학적 염색을 시행한 후 광학현미경으로 관찰한 결과 암소주위의 정상 유방조직에서는 소엽사이에 있는 유관과 소엽을 이루는 선 (Fig. 1) 및 주위의 말초신경에서 (Fig. 2) 양성세포가 출현하였다. 유선과 유관에서 관찰된 세포들은 내강쪽에 위치한 분비세포와 간질사이에 존재하는 키가 작은 입방체 혹은 방추체 모양의 상피세포로써 유방조직에서 기술된 근상피세포와 일치하였다. 전체 32증례 중에서 18예의 침윤성 유관암에서는 S-100단백질 양성세포가 다양한 형태로 출현되었으나 14예에서는 관찰할 수 없었다 (Fig. 2). 비침윤성 유관암 상태에서는 기저막부위에서 S-100단백질에 양성인 근상피세포를 관찰할 수 있었으며 (Fig. 3), 이들은 때로 증식된 종양세포사이 또는 내강에 인접한 곳에서도 관찰되었다. 그러나 팽창성 침윤을 하는 유관암에서는 간질과 종양세포사이에 입방형으로 나란히 배열된 상피세포층을 관찰할 수 있었으나 이 세포들은 S-100단백질 염색에 대해 몇개의 세포에서 약한 활성을 보

일 뿐 대부분의 세포에서는 음성이었다(Fig. 4). 전형적인 침윤성 증식을 하는 유관암에서는 각 암소에서 한 두개의 세포가 S-100단백질에 대해 양성으로 염색되었으며(Fig. 5), 일부의 증례에서는 소수의 세포로 구성된 불완전한 관상분화를 보이는 침윤성 암소에서도 대부분의 세포가 양성으로 관찰되었다(Fig. 6). 전체 32예중 7예에서는 임파절 전이소에서도 S-100단백질 양성세포가 관찰되었다(Fig. 7). 또한 3예에서는 침윤성암소의 주변부 세포와 소수에 불과하지만 주위의 간질에 있는 방추체 모양의 세포에서 S-100단백질 양성세포가 관찰되는 점이 특이하였다(Fig. 8,9). 간질섬유 모세포와 유사한 방추체 모양의 세포에서 관찰된 S-100단백질 양성 소견은 육종성 화생을 일으킨 2예에서도 침윤성 암소의 주변부에 있는 세포(Fig. 10) 및 화생을 일으킨 연골세포에서도 관찰되었다(Fig. 11).

초미세형태학적 검색은 S-100단백질 양성세포가 출현되는 부위의 암소를 중심으로 시행하였다. 암소주위의 정상 유선에서는 내강으로 부터 분비세포, 근상피세포, 2층으로 된 기저막, 교원섬유가 풍부한 간질에 존재하는 섬유모세포를 관찰할 수 있었으며(Fig. 12), 이들은 Ozzello[14]가 기술한 정상유방에서의 상피세포—간질접합부와 일치하였다. 이중에서 근상피세포는 상피세포하방에 수직으로 기저막을 따라 바구니 형태로 배열되어 있으며 기저막 쪽으로 불규칙적인 돌기를 내면서 반교소체에 의해 기저막과 연결되고, 세포질에서 소수의 사립체, 세포흡수성소포 및 풍부한 크고 작은 미세사상체가 관찰되었고, 미세사상체사이에서 이들이 응집되어 있는 것 같은 조밀체가 출현되었다. 때로는 상피세포와 평형하게 입방체 모양으로 배열된 근상피세포도 관찰되었다(Fig. 13). 비침윤성 유관암 상태에서도 내강쪽으로 부터 종양상피세포, 근상피세포, 기저막 및 간질의 섬유모세포를 확인할 수 있었다(Fig. 14). 그러나 근상피세포에서는 핵주위의 세포질에서 ribosome, 소수의 조면내형질세망, 사립체등이 출현하였으며 미세사상체는 더 조대하고 길이가 다소 단축되었다. 또한 일부 기저막의 균열이 관찰되었으며 간질의 섬유모세포는 기저막에 인접되어 있었다.

침윤성 유관암에서 근상피세포는 암소의 주변부에 있는 종양세포와 불규칙적으로 파열된 기저막 사이에 존재하였으며, 세포질에 있는 특징적인 크고 작은 미세사상체와 주위 세포와의 연결부위에 있는 반교소체로 인하여 비교적 쉽게 인지할 수 있었다(Fig. 15). 그러나 근상피세포의 핵은 주위에 있는 종양세포와 같이 염색질이 응집되어 있었으며, 핵 주위의 세포질에서는 변성을 일으킨 조면내형질세망, 사립체, ribosome이 관찰되는 등의 종양세포의 세포질과 비슷한 점이 인정되었다. 관상분화를 보이는 침윤성 암소에서도 근상피세포는 종양세포와 일부 파괴된 기저막 사이에서 관찰되었는데, 정상 근상피세포에 비하여 미세사상체의 감소가 현저하였고 조면내형질세망, 사립체, ribosome, 미세공포 등의 세포소기관이 증가되었다(Fig. 16). 어떤 암소에서는 세포질의 전자밀도 차이에 따라 두가지 종류의 종양세포를 관찰할 수 있었으며 각각의 세포질에서는 미세융모가 출현되어 있는 내강형성을 볼 수 있었다(Fig. 17). 이곳에 존재하는 근상피세포에서는 세포질에 일부 남아있는 미세사상체, 조밀체 및 반교소체를 제외하고는 원형 또는 다각형의 세포로서 과립상의 염색질, 풍부한 사립체, 확장된 내형질세망을 관찰할 수 있었고(Fig. 18), 이상의 소견은 근상피세포에서 전자밀도가 높은 종양세포로의 형태학적 전환을 추측할 수 있게 하였다.

한편 침윤성 암소의 경계를 이루는 바깥쪽 종양세포와 주위의 간질에 있는 몇개의 방추체 모양의 세포에서도 S-100단백질에 양성으로 관찰되었는데(Fig. 8,9) 이 부위는 초미세형태학적으로 조면내형질세망이 풍부한 방추체의 세포로서 이것은 종양세포 사이에서(Fig. 19), 때로는 종양세포와 일부 남아있는 기저막 사이에서(Fig. 20), 혹은 간질에서(Fig. 21) 관찰되기도 하였다. 이 세포는 S-100단백질에 양성으로 염색되고 소량의 미세사상체가 관찰되는 점으로 인하여 근상피세포가 변형되어 나타난 세포로 생각되었으며, 세포질의 변연부에 국한되어 조면내형질세망이 분포되어 있고 중심부에서 확장된 내형질세망이 관찰되는 점으로 보아 간질에 있는 섬유모세포와의 구별이 가능하였다. 이 방추체 세포는 침윤성 증식이 현저한 곳에서도 종양세포 사이에서 관찰되었는데 이때는 다각형의 형태로써 중심부에는 몇개의 조밀체가 존재하였다.

이상과 같이 S-100단백질에 대한 양성세포가 출현된 부위를 중심으로 하여 초미세형태학적 관찰을 한 결과 침윤성 유관암에 있어서 근상피세포는 핵과 세포질의 변화와 함께 일부에서는 근상피 세포와 종양세포의 공통된 형태를 갖는 중간형의 세포로 또는 간질의 섬유모세포와 유사한 방추체 세포로의 전환가능성을 보여주었다.

Fig. 1 – 11. Light microscopic features examined by S-100 protein immunoperoxidase stain.

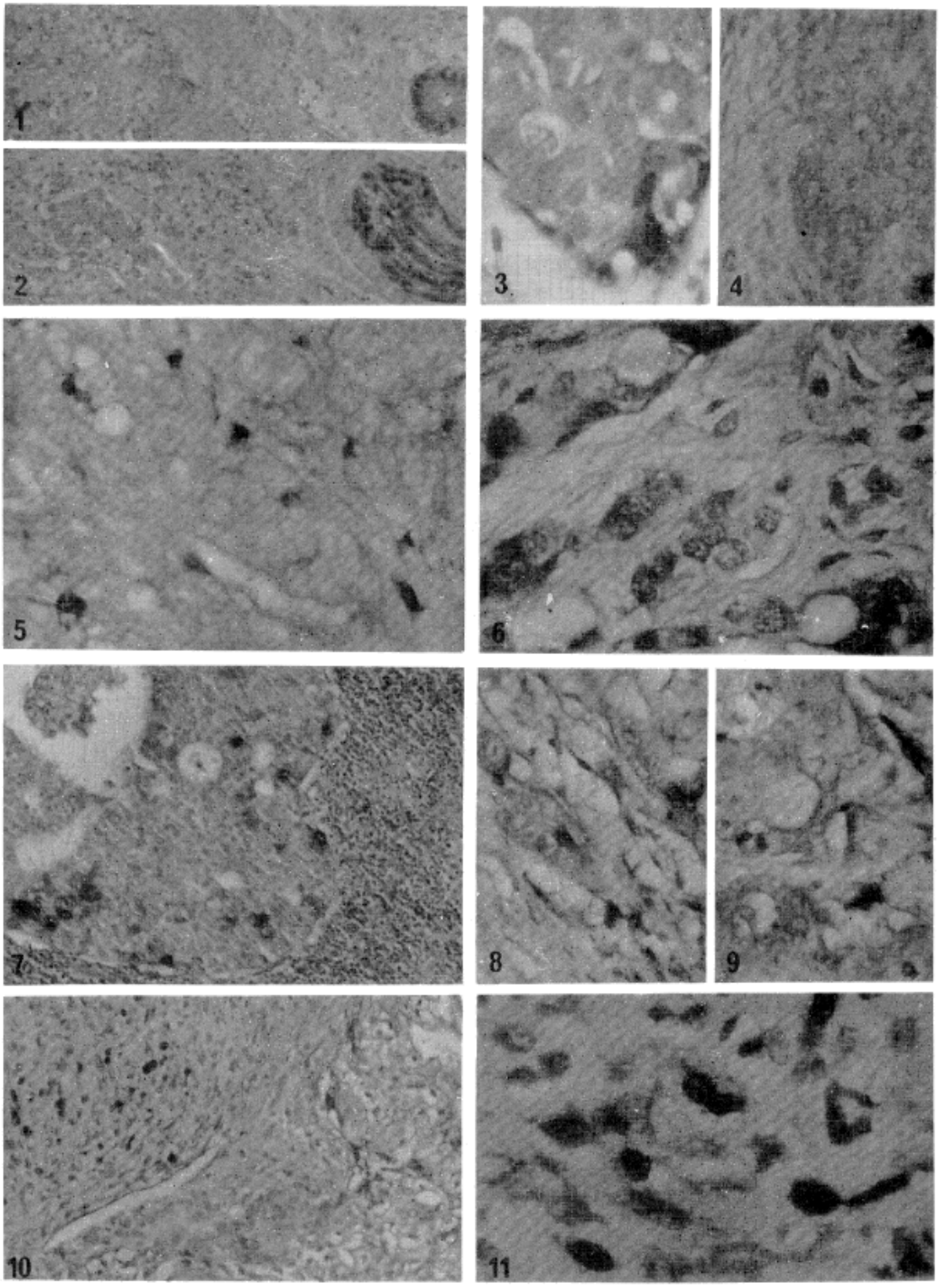
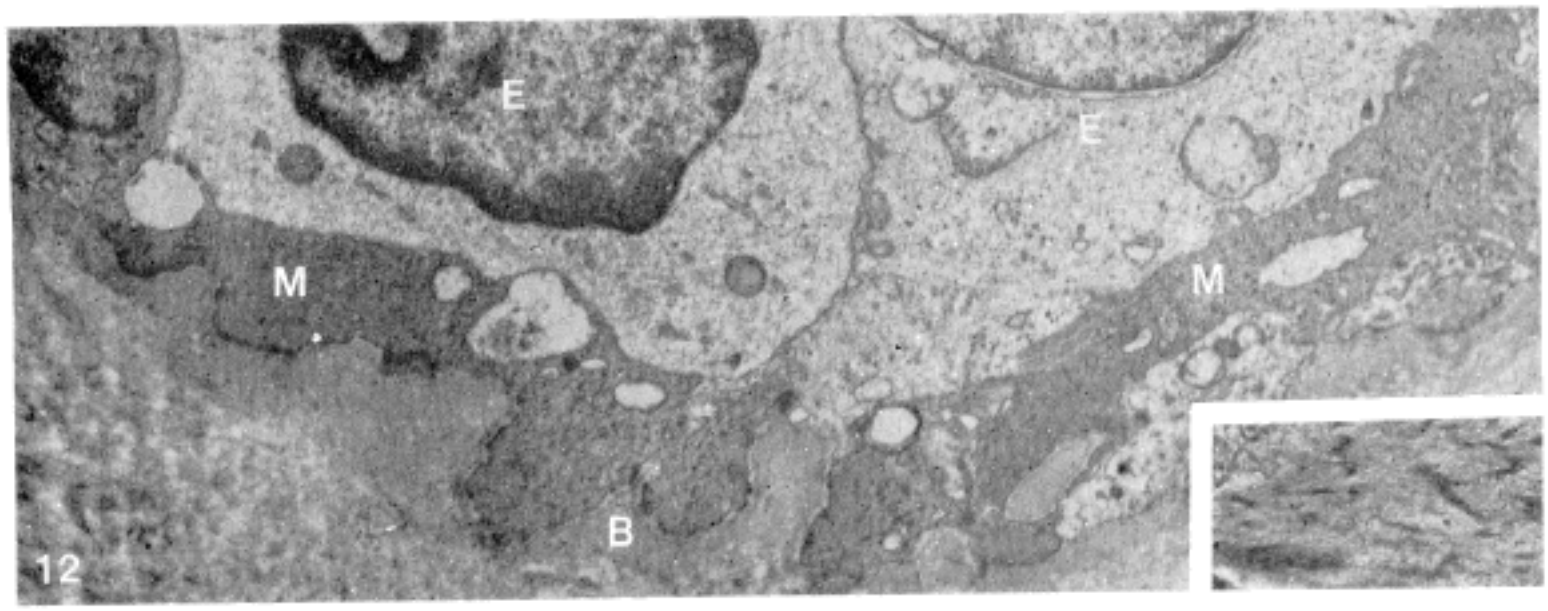
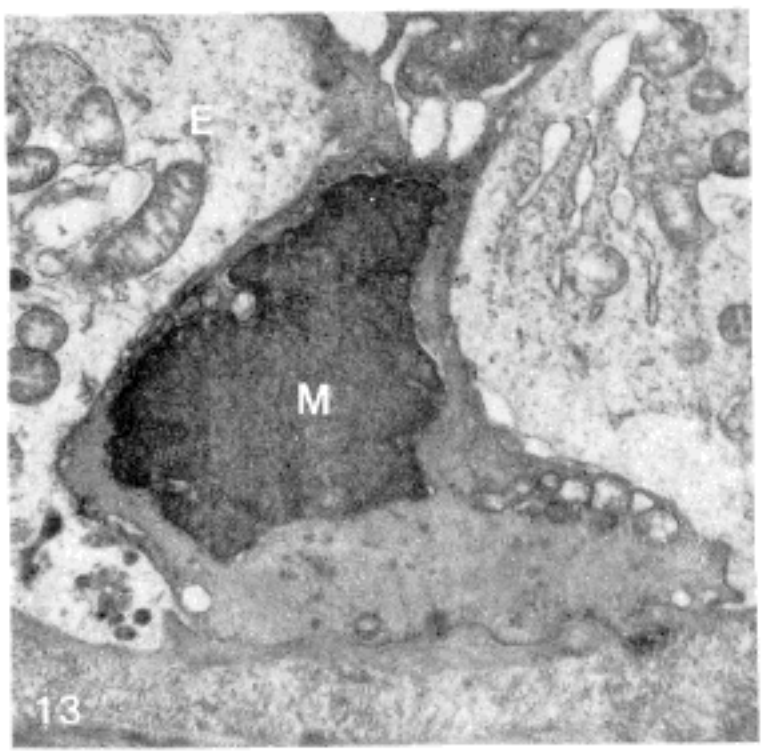
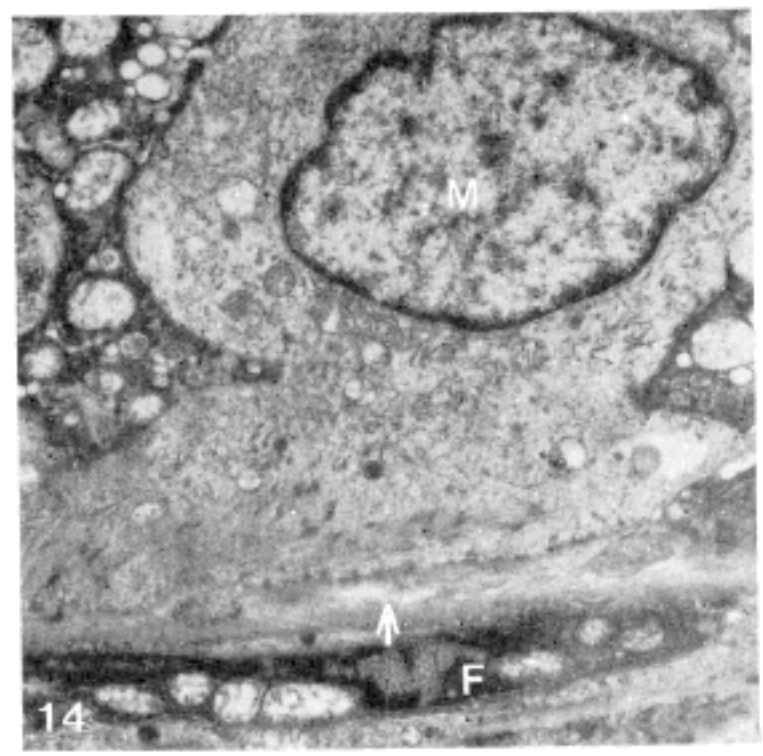
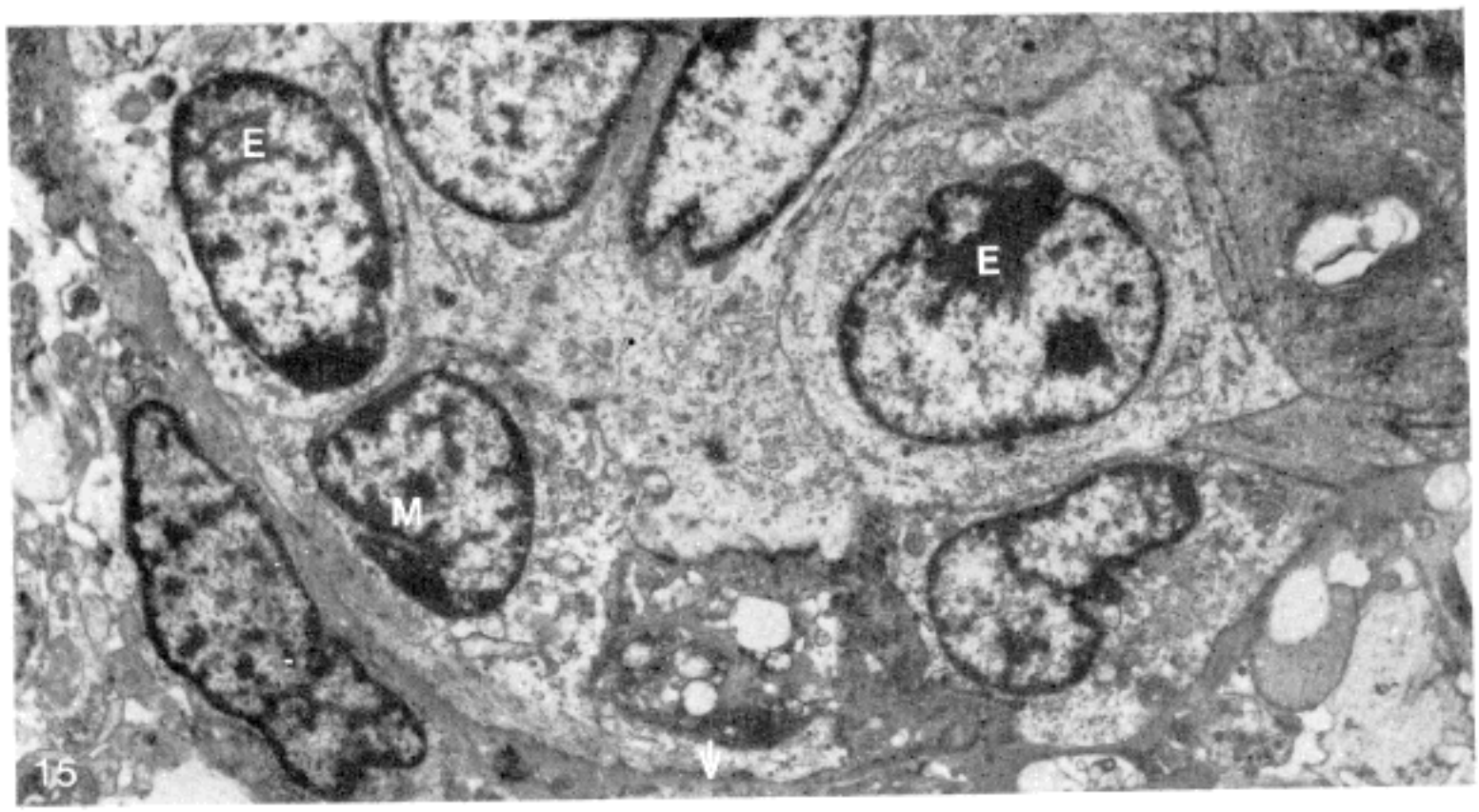


Fig. 12 – 29. Ultrastructural features examined by uranyl acetate and lead citrate stain.

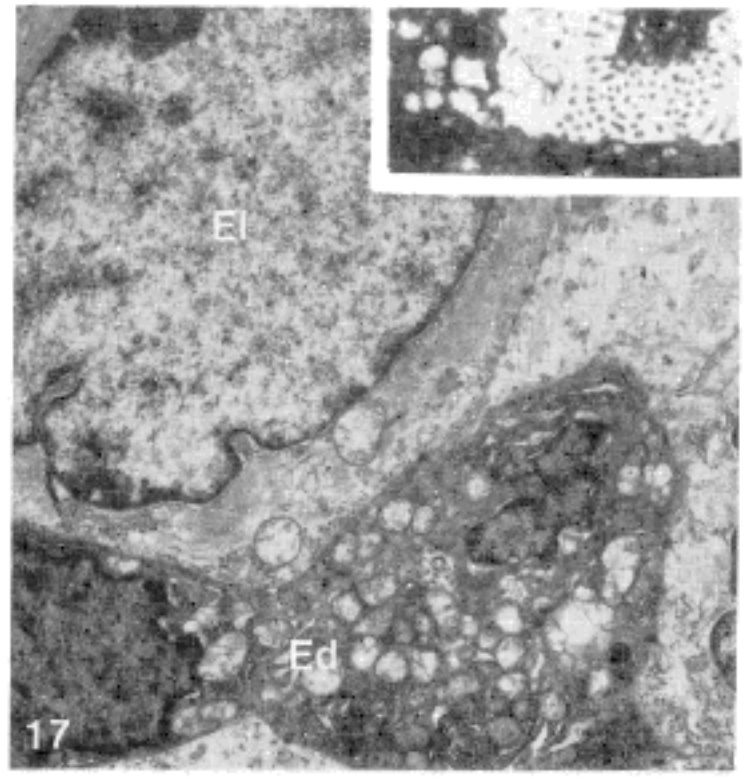


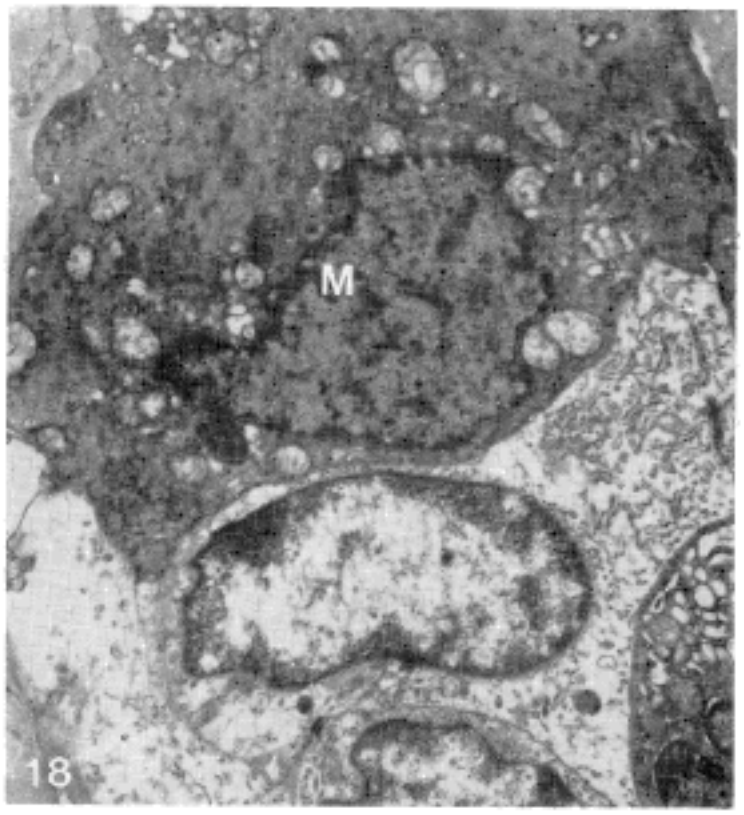


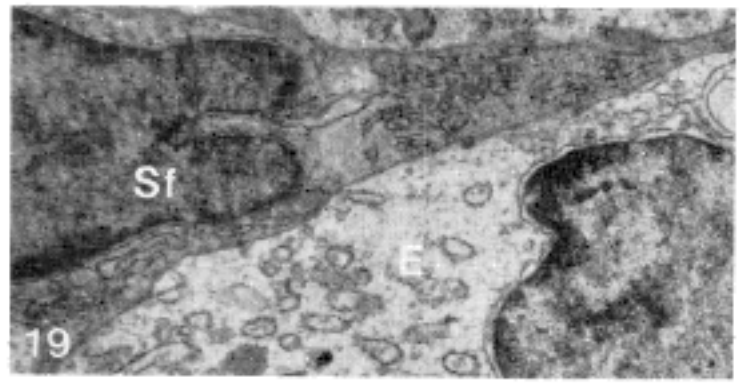


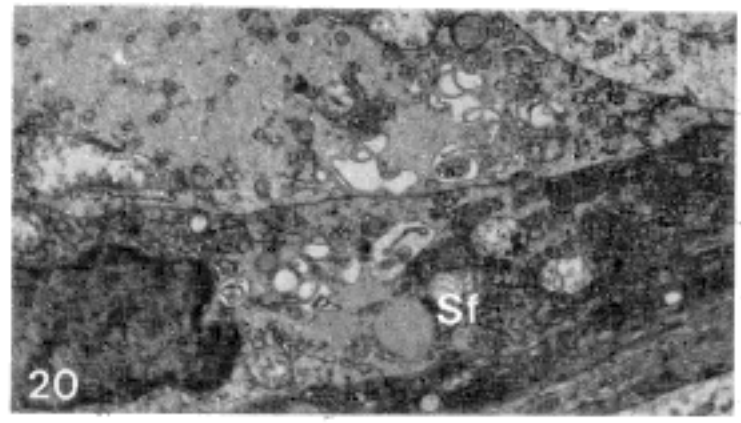


E
M
16

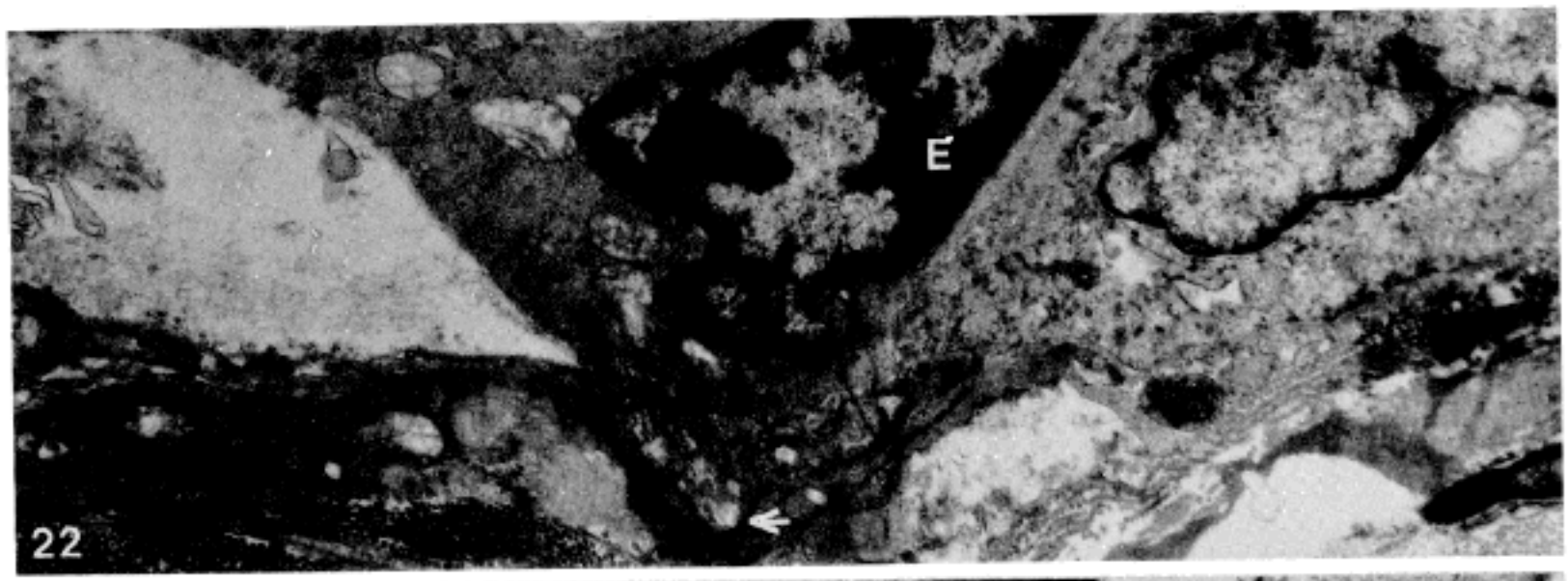

El
Ed
17


M
18


Sf
E
19


Sf
20

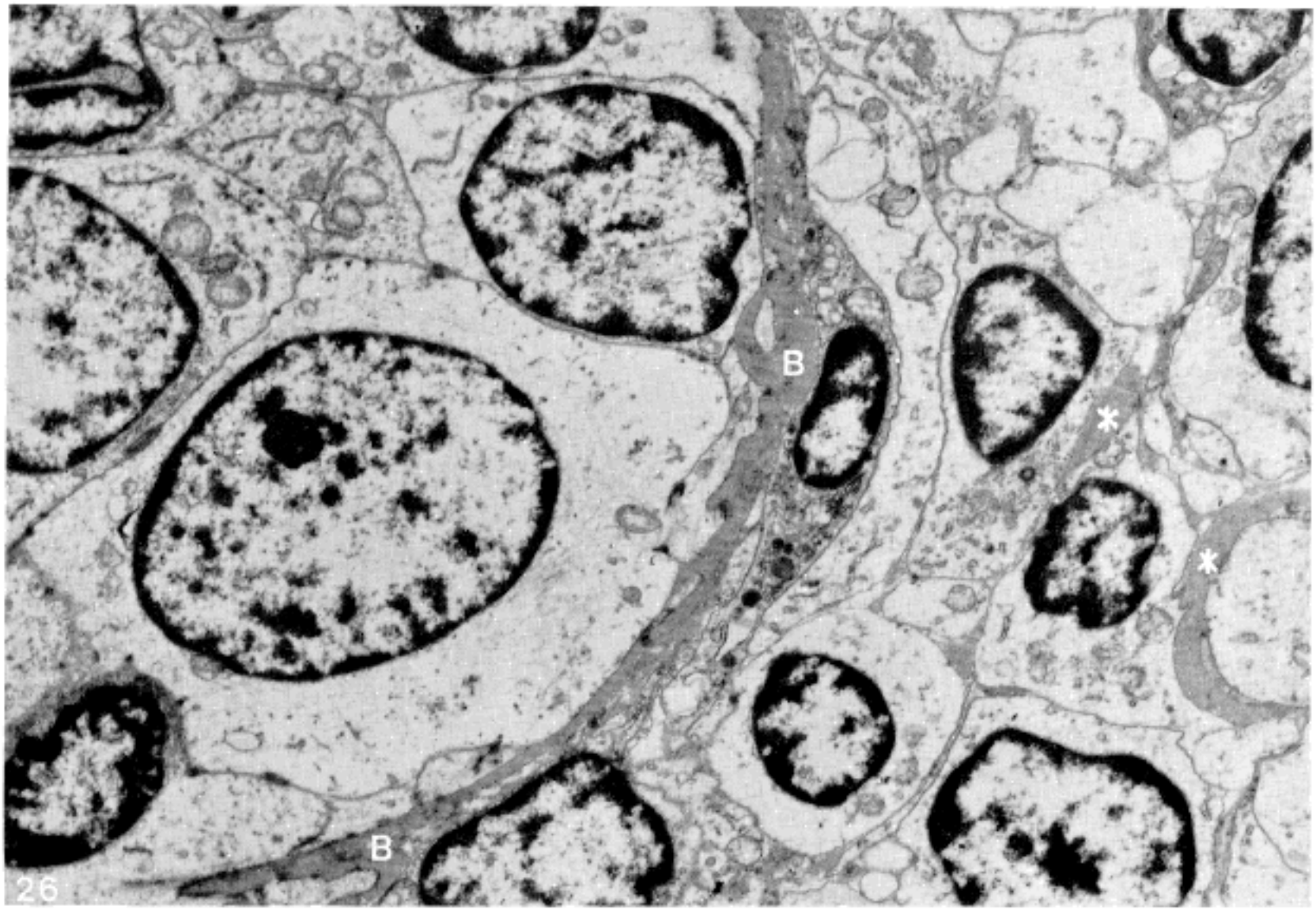
E
Sf
F
21

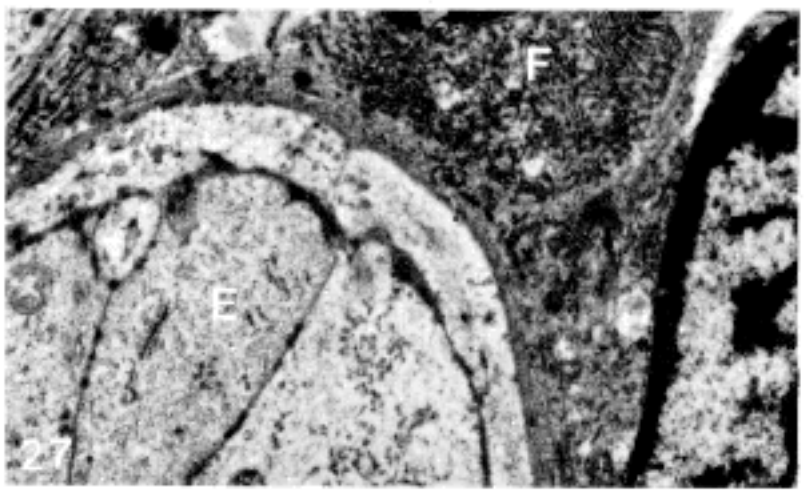

E
22

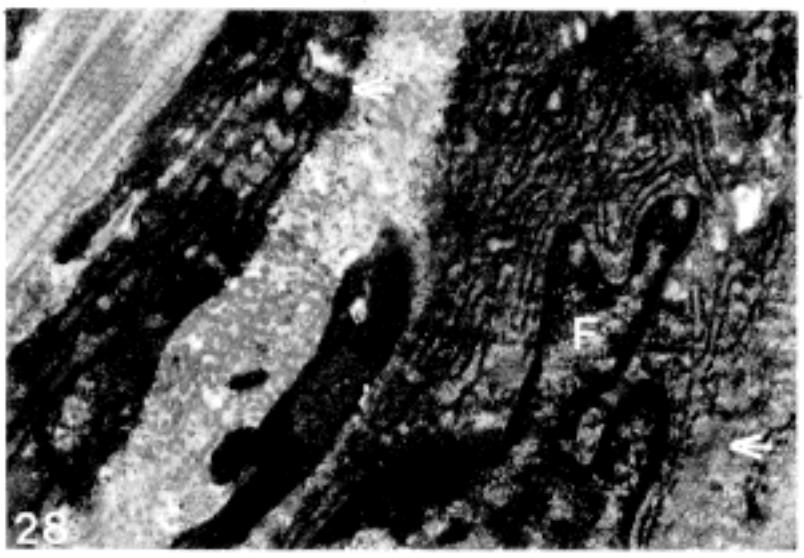
E

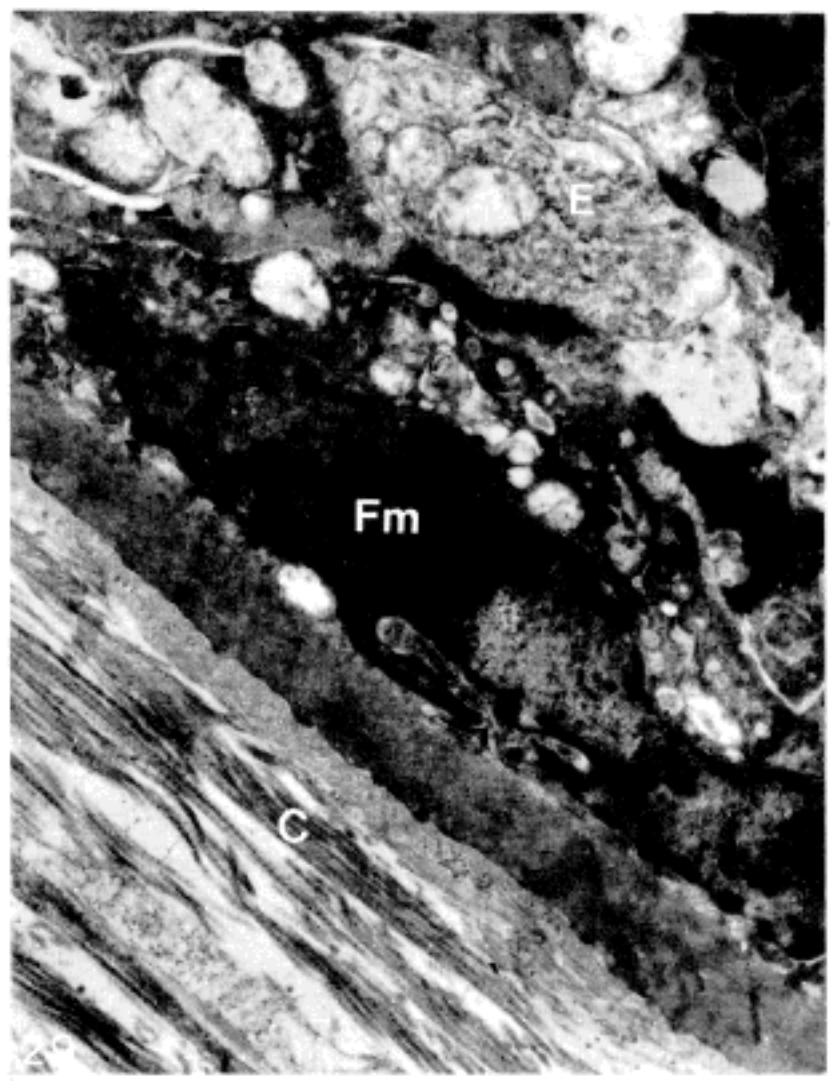
L
24

N


B
*
*
B
26


F
E
27


F
28


E
Fm
C

2. 기저막

암소주위의 정상 유선부위에서는 전자밀도에 따라 투명층과 기밀층의 두층을 구별할 수 있었으나(Fig. 12), 유관암에서는 기밀층만이 관찰되었다. 비침윤성 유관암에서는 증식된 세포에 의해 압박되어 기저막은 평평하고 얇아져 있으며 국소적인 분리가 관찰되었다(Fig. 14). 침윤성 증식은 근상피세포의 주위에서 세포질에 미세사상체가 풍부한 종양상피세포의 세포질이 파열된 기저막 사이로 돌출되면서 시작되었다(Fig. 22,23). 이곳을 통하여 침윤된 종양세포는 바로 간질의 섬유모세포 또는 교원섬유와 접하고 있었다. 일부에서는 암소 주위에 임파구, 형질세포, 중성 및 염기성 백혈구로 구성된 염증세포 침윤을 볼 수 있었는데 이들에 의한 간질의 결합조직 및 기저막의 불규칙적인 파괴도 관찰되었다(Fig. 24,25). 이 외에도 침윤성 증식을 하는 암소 주위에서는 기저막의 분절상(Fig. 15,16)과 불규칙적인 비후, 그리고 각각의 암소를 불규칙적으로 덮고있는 기저막을 관찰할 수 있었으며, 종양세포들에서는 개개의 세포질내에 생성된 기저막 물질을 관찰할 수 있었다(Fig. 26).

이상과 같이 침윤성 증식에 의해 초래되는 기저막의 변화는 각각의 증례 또는 각 증례의 부위에 따라 여러가지 형태로 관찰되었다.

3. 간질의 섬유모세포

암소 주위의 정상 유선이 있는 곳에서 섬유모세포는 기저막 하부의 간질에서 세포소기관이 거의 없이 방추체의 얇은 세포질을 갖는 세포로써 관찰되었다. 비침윤성 유관암 상태에서 섬유모세포는 위와 비슷한 형태로써 기저막에 바로 인접하여 출현되었다(Fig. 14). 침윤성 유관암에서는 세포질이 비후되고 확장된 조면내형질세망이 출현되었으며(Fig. 21), 이들은 근상피세포에서 전환되어 출현되었으리라고 생각되는 방추체 세포와는 앞에서 기술한 바와 같이 다소간의 형태학적 차이가 관찰되었다. 이들은 침윤된 암소 사이에 존재하면서 암소의 세포막을 따라서 하나 또는 여러개의 세포가 성상의 세포질 돌기를 내어 배열되기도 하였다(Fig. 27). 간질세포의 증식이 현저한 곳에서는 풍부한 조면내형질세망을 함유한 섬유모세포로 부터 조면내형질세망이 점차 핵 주위에만 국한되어 존재하면서 주변부의 세포질에 근상피세포와 유사한 미세사상체가 많이 생성되어 있는 소위 근섬유모세포로의 전환이 관찰되었다(Fig. 28,29). 교원섬유증식이 현저한 암소에서는 종양세포사이로 조면내형질세망만이 다소 발달된 섬유모세포가 관찰되었다.

고 찰

유방의 섬유낭종성 질환, 양성 및 악성종양에 있어서 근상피세포의 형태학적 변화에 관한 연구는 본 세포에 대해 특이성을 나타내는 여러가지 특수염색법의 도입으로 인하여 많은 진전을 보이고 있다. 근상피세포에 대한 특수염색법은 세포질에 있는 미세사상체를 염색하는 TPA (tannic acid-phosphomolybdic acid-amido black)[33], PTAH (phosphotungstic acid-hematoxylin)와 IH (Heidenhain's iron hematoxylin)[34]방법, 냉동절편을 이용하여 근상피세포의 세포질에 있는 ATPase (adenosine triphosphatase)[16], alkaline phosphatase[18]등을 증명하는 효소조직화학적 방법, 코고 작은 미세사상체, 조밀체, 반교소체를 관찰하는 초미세형태학적 방법[14,35~39], 세포질에 있는 미세섬유의 구성성분인 actin과 myosin[40], prekeratin[41,42]과 세포질의 구성성분인 S-100단백질[43,44]등에 대한 면역조직화학적 방법 등이 있다. 이중에서 TPA, PTAH, IH 방법과 actin, myosin에 대한 면역조직화학적 방법은 근상피세포뿐만 아니라 간질세포의 세포질에 있는 미세사상체에도 염색이 되며, ATPase, alkaline phosphatase 방법과[45] prekeratin에 대한 면역조직화학적방법[46]은 유방암의 종양상피세포에서도 염색이 되기 때문에 근상피세포를 정확히 구분하기는 어렵다고 생각된다. 근상피세포에 대한 초미세형태학적 관찰은 세포질에 미세사상체가 많이 생성되는 유관암세포와 감별해야 하지만 특징적인 코고 작은 두 종류의 미세사상체, 조밀체, 반교소체등을 찾음으로써 가능하다.

S-100단백질은 Moore등[7]에 의해 처음 추출되었으며 100% ammonium sulfate 용액에 용해되고 calcium과 결합력이 있는 산성단백질로써 신경조직에 특이하게 분포한다고 알려져 있다. 그후 Nakajima등[42]은 S-100단백질을 이용하여 각종 종양세포에 대하여 염색을 한 결과 중추 및 말초신경종양, 연골종양, 타액선의 혼합종, 각종 유방질환의 근상피세포등에 특이하게 염색되는 것을 보고하였다. 본 연구에서도 S-100단백질에 대한 면역효소조직화학적 염색을 하였던바 광학현미경으로 암소

주위의 정상부위에 있는 유선, 유관의 근상피세포 및 신경섬유를 쉽게 관찰할 수 있었다.

유방의 섬유낭종성 질환, 양성종양을 비롯한 비침윤성 유관암에서는 기저막과 분비상피세포 사이에 1층의 근상피세포가 배열되어 있다고[18,22,38,45] 알려져 있으며, Ozzello[43]는 이와 같이 근상피세포가 경계를 이루어 배열되어 있으면 악성질환이 아니라고 하였다. 침윤성 유관암에 있어서 근상피세포에 대한 형태학적 연구는 여러가지 보고를 접할 수 있었다. Kuzma등[15], Ozzello[48], Fisher[49]는 근상피세포가 존재하지 않는다고 하였으며, 이에 반하여 Hamperl[50], Sykes등[51]은 광학현미경 및 초미세형태학적 연구에서 암소 주변부에 근상피세포가 관찰된다고 하였고, Sarker등[16]은 임파절 전이암소에서도 원발암소에 비하면 소수에 불과하지만 근상피세포가 관찰된다고 하였다.

Bussolati등[52]은 actin에 대한 면역조직화학적 염색을 통해 근상피세포를 관찰한 결과 침윤성 유관암의 50%에서, Nakajima등[43]은 S-100단백질을 통해 관찰한 결과 7예중 2예에서 관찰되었다고 한다. 본 연구에서는 32예의 일반적인 유형의 침윤성 유방암을 대상으로 관찰한 결과 원발암소에서는 18예에서, 임파절 전이소에서는 7예에서 S-100단백질에 양성인 근상피세포를 관찰할 수 있었다. 따라서 양성 유방질환에서는 대부분에서 규칙적으로 배열 또는 증식된 근상피세포가 존재하고 있으며, 일반적인 유형의 침윤성 유관암에서는 약 50%에서 대개는 개개의 세포로써 암소주위에서 관찰된다고 하겠다.

일반적인 유형의 침윤성 유관암에서 관찰되는 근상피세포의 형태학적 변화에 대해서는 두가지 면에서 의의가 있다고 생각된다. 첫째는 근상피세포가 종양세포의 구성세포 일원으로써 또는 종양세포 사이에 남아있는 잔여세포로써 존재하는가 이다. 이점에 대한 보고는 접할 수 있었으나 본 연구에서는 일부의 근상피세포에서 염색질의 조대한 응집, 미세사상체와 반교소체의 소실, 종양상피세포질에서 관찰할 수 있는 사립체, 내형질세망, ribosome 등이 출현하는 등의 근상피세포와 종양상피세포 사이의 중간형 세포를 관찰할 수 있었다. 그러나 이러한 형태학적 변화가 침윤성 유관암에 의한 반응성 변화인지 또는 정상상태에서 한선이나[53] 유선의[36] 근상피세포가 분비세포로 이행하는 것처럼 종양상피세포로의 이행인지는 더 추구해 보아야 할 과제로 생각된다. 둘째는 근상피세포가 간질의 섬유모세포 또는 근섬유모세포로 이행될 수 있는가 하는 것이다. Ahmed[18,45]는 침윤성 유관암의 간질에서 이행세포를 관찰하였고 따라서 근상피세포는 섬유모세포로 이행될 수 있다고 하였다. 본 연구에서는 국소적으로 육종성 화생을 동반한 2예를 포함한 5예의 암소와 암소주위의 간질세포에서 S-100단백질에 대한 양성세포를 관찰할 수 있었다. 이들은 초미세형태학적으로 전형적인 섬유모세포와는 다소 형태학적인 차이가 있었으나 섬유모세포와 유사한 방추형 또는 다각형의 간질세포이었다. 따라서 타액선에서 발생되는 다형태성 선종에서와 같이[54] 근상피세포와 간질세포로 이행될 수 있는 가능성도 있다고 하겠다. 그러나 본 질환에서 나타난 섬유모세포나 근섬유세포에서 근상피세포에 특징적인 반교소체나 tonofilament를 갖는 이행세포는 관찰되지 않았다.

세포외부에 있는 기저막은 세포 및 조직을 형태학적으로 지지하며 종양이 침윤성 증식과 전이를 할 때 기저막이 파괴된다는 것은[9] 주지의 사실이다. 현재까지 밝혀진 기저막의 구성성분은[3] 실질세포의 지지역할을 하는 Type IV collagen, 항원성 결정과 세포간 결합에 관여하는 laminin, 음이온을 띠고 있기 때문에 물질의 여과에 관여하는 heparan sulfate proteoglycan 및 기능이 확실히 알려져 있지 않은 entactin등이며, 일부 조직의 기저막에서만 발견되며 주로 물질여과 기능에 관여하는 fibronectin, type V collagen, chondroitin sulfate 등이 있다. 이 중에서도 기밀층 구성 성분인 type IV collagen과[56] 투명층 구성성분인 laminin[57]에 대한 면역효소조직화학적 염색을 암종의 침윤성 여부를 결정하는데 있어서 최근에 가장 많이 이용되고 있으며 이들의 생성은 상피세포, 근상피세포, 혈관의 내피세포에서 이루어진다고 한다[57]. 그러나 실제 임상에서는 위와 같은 방법을 통하여 원발부위에서 상피내암종이라고 진단된 경우에서도 드물지만 임파결절 전이가 동반된 보고가 있다[58,59]. 따라서 침윤초기의 기저막 분절상 등을 판독하는데 있어서 광학현미경적 관찰은 해상력의 한계 때문에 어렵다고 생각된다. 종양세포에 의한 기저막의 파괴는 주로 종양세포에서 분비되는 collagenase[60] protease[61]등의 효소에 의해 초래된다고 하며, 때때로 본 연구에서 관찰한 바와 같이 염증세포의 침윤도 자궁경부암에서와[62] 같이 하나의 유인이 될 것으로 생각된다. 또한 본 연구에서는 침윤성 암소주위와 개개 종양세포의 세포질내에서 기저막 물질의 침착이 관찰되었는데 이러한 소견은 임파절등에

전이를 일으킨 종양세포에서도 보고된[63] 바 있으며, 그 원인은 종양세포에 의한 기저막의 급속한 파괴 또는 종양세포의 세포질이나 세포막을 통한 기저막 물질의 이동장애 때문이라고 생각된다.

종양에 의해 나타나는 병태생리적 현상은 종양세포에서 나타나는 세포의 퇴행성 변화, 증식, 침윤 및 전이와 숙주의 반응으로써 나타나는 세포성 면역기전, 새로운 혈관의 형성 및 간질섬유세포의 증식이라고 할 수 있다[64]. 본 연구에서 암소주위의 정상부위와 침윤성 암소에서는 방추형의 얇은 세포질을 갖는 섬유모세포를, 침윤성 유관암에서는 조면내형질망의 현저히 증가된 활성화된 섬유모세포와 세포막 주위의 세포질에서 크고 작은 미세사상체와 조밀체등이 출현하는 근섬유모세포를 관찰할 수 있었다. 따라서 근섬유모세포는 침윤성 증식이 있는 간질에서 관찰된다고 할 수 있다. 근섬유모세포에 의한 간질의 반응은 종양의 성장속도와 숙주조직의 종류에 따라 차이가 있으며, 특히 서서히 성장, 침윤하는 종양에서 활발하다[65]. 이 세포의 기능은 병변을 수축시키고 type III collagen을 생성하면서 세포간의 결합력을 증진시키며, 결국에는 type I collagen을 생성하여 병변을 경화시킨다[66]. 따라서 간질반응의 마지막 단계는 병변의 수축과 경화이며, 이로 인하여 악성종양의 국소적인 침윤은 지연되고 종양세포는 혈관에 인접될 것으로 생각된다.

근상피세포의 기원은 간질의 섬유모세포와[13] 근상피세포라는[18,45] 보고가 있다. 특히 Schürch등[13]은 섬유모세포, 근섬유모세포, 근상피세포가 갖고 있는 미세사상체에 대한 면역효소조직화학적 염색결과 섬유모세포와 근섬유모세포에는 actin과 vimentin이, 근상피세포에는 actin과 prekeratin이 함유되어 있음을 증명한 바 있다. 본 연구에서도 간질의 섬유모세포에서 근섬유모세포로의 형태학적 전환이 관찰되었지만 앞에서 기술한 바와 같이 근상피세포로 부터 이행되는 가능성도 부정할 수는 없다고 생각된다.

결 론

일반적인 유형의 침윤성 유관암에 있어서 근상피세포, 기저막, 간질의 섬유모세포에 대한 형태학적 변화를 추구하기 위하여 임파결절 전이를 동반한 32예의 유관암을 대상으로 하여 S-100단백질에 대한 면역조직화학적 및 초미세형태학적 관찰을 시행한 결과는 다음과 같다.

1) S-100단백질에 대한 면역조직화학적 염색에서 양성으로 나타나는 근상피세포는 18예의 원발암소와 7예의 임파절 전이소에서 관찰되었다. 대부분의 근상피세포는 암소의 주변부에서 독립된 한개의 세포로써 관찰되었으며, 육종성 화생을 동반한 2예를 포함하여 5예에서는 암소주위의 간질에 있는 방추형 세포에서 양성으로 관찰되었다.

2) 초미세형태학적으로 섬세하고 조대한 2종류의 풍부한 미세사상체와 반교소체 연결부를 갖고 있는 근상피세포는 침윤성 암소에서 다소 변형되어 관찰되었으며, 일부에서는 종양세포와 비슷한 중간형의 세포 또는 간질에 있는 방추형세포로 전환되었다.

3) 침윤성 증식은 국소적으로 파괴, 분절된 기저막 사이로 종양세포의 세포질이 돌출됨으로써 시작되었고, 일부에서는 염증세포에 의한 파괴가 관찰되었다. 일반적으로 침윤성 암소는 기저막이 소실되어 바로 간질의 교원섬유에 인접하여 존재하였으나 때로는 암소주위, 개개의 종양세포 주위 또는 세포질에 불규칙적인 기저막 물질의 침착을 동반하였다.

4) 침윤성 유관암에서 간질의 섬유모세포는 조면내형질세망과 세포질의 양이 증가되었으며, 간질 섬유모세포의 증식이 활발한 곳에서는 근상피세포로의 전환이 관찰되었다.

참 고 문 헌

1) **Mareel MM:** *Recent aspects of tumor invasiveness. Int Rev Exp Pathol 22:65, 1980*
2) **Regato JA:** *Pathways of metastatic spread of malignant tumors. Semin Oncol 4:33, 1977*
3) **Hernandez MA, Amenta PS:** *The basement membrane in pathology. Lab Invest 48(6):656, 1983*
4) **Hart IR, Fidler IJ:** *Cancer invasion and metastasis. Q Rev Biol 55:121, 1980*
5) **Weinstein RS:** *The structure and function of intercellular junctions in cancer. Adv Cancer Rec 23:23, 1976*
6) **Strauli P, Weiss L:** *Cell locomotion and tumor penetration. Eur J Cancer 13:1, 1977*
7) **Tickle AA:** *Cell movement and the mechanism of invasiveness: A survey of the behavior of some normal and malignant cells implanted into the developing chick wing bud. J Cell Science 31:293, 1978*

8) **Burtin P, Chavanel G, Foidart JM, Martin E:** *Antigens of basement membrane and the peritumoral stroma in human colonic adenocarcinomas: an immunofluorescence study. Int J Cancer 30:13, 1982*
9) **Rubio CA, Biberfeld P:** *The basement membrane of the uterine cervix in dysplasia and squamous carcinoma: an immunofluorescent study with antibodies to basement membrane antigen. Acta Pathol Microbiol Scand A Pathol 83:744, 1975*
10) **Broders AC:** *Carcinoma in situ contrasted with benign penetrating epithelium. J Am Med Assoc 99: 1670, 1932*
11) **Ohtani H, Sasano N:** *Stromal cell changes in human colorectal adenoma and carcinomas. Virchows Arch (Pathol. Anat) 401:209, 1983*
12) **Schürch W, Seemayer TA, Lagacé R, Gabbiani G:** *The intermediate filament cytoskeleton of myofibroblasts: an immunofluorescence and ultrastructural study. Virchow Arch (Pathol. Anat) 403:323, 1984*
13) **Schürch W, Seemayer TA, Lagacé R:** *Stromal myofibroblasts in primary invasive and metastatic carcinomas. Virchow Arch (Pathol. Anat) 391:125, 1981*
14) **Ozzello L:** *Epithelial-stromal junction of normal and dysplastic mammary glands. Cancer 25(3):586, 1970*
15) **Kuzma JE:** *Myoepithelial proliferation in the human breast. Am J Pathol 19:473, 1943*
16) **Murad TM:** *Histochemical differentation of human breast cancers. Am J Pathol 59:40A, 1970*
17) **Sarkar K, Kallenbach E:** *Myoepithelial cells in carcinoma of human breast. Nat Cancer Inst Canada 49(2):301, 1966*
18) **Ahmed A:** *The myoepithelium in human breast carcinoma. J Pathol 113:129, 1974*
19) **Barsky SH, Siegal GP, Jannotta F, Liotta LA:** *Loss of basement membrane components by invasive tumors but not by their benign counterparts. Lab Invest 49(2):140, 1983*
20) **Siegal GP, Barsky SH, Terranova VP, Liotta LA:** *Stages of neoplastic transformation of human breast tissue as monitored by dissolution of basement membrane components: an immunoperoxidase study. Invasion Metastasis 1:54, 1981*
21) **Barsky SH, Togo S, Garbisa S, Liotta LA:** *Type IV collagenase immunoreactivity in invasive breast carcinoma. Lancet 1:296, 1983*
22) **Goldenberg VG, Goldenberg NS, Sommers SC:** *Comparative ultrastructure of atypical ductal hyperplasia, intraductal carcinoma, and infiltrating ductal carcinoma of the breast. Cancer 24(6):1152, 1969*
23) **Rudolph R, Guber S, Suzuki M, Wood M:** *The life cycle of the myofibroblast. Surg Gynecol Obstet 145: 389, 1977*
24) **Hassan MO, Olaizola MY:** *Male breast carcinoma: An ultrastructural study. Arch Pathol Lab Med 103: 191, 1979*
25) **Seemayer TA, Lagace R, Schürch W, Trembly G:** *Myofibroblasts in the stroma of invasive and metastatic carcinoma: A possible host response to neoplasia. Am J Surg Pathol 3(6):525, 1979*
26) **Azzopardi JG:** *Problems in breast pathology. London, W.B. Saunders Co, 1979*
27) **Gallager HS:** *Classification of breast neoplasms. St Louis, C.V. Mosby Co p. 61, 1978*
28) **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*
29) **Karnovsky MJ:** *A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for the in electron microscopy. J Cell Biol 27:137A, 1965*
30) **Millonig GA:** *Further observation on a phosphate buffer for osmium solutions in fixation: In "Electron microscopy", Proc. 5th Intern. Congr. Electron Microscopy, 2:8 Academic press, New York, 1962*
31) **Luft JH:** *Improvement in epoxy resin embedding methods. J Biophysiol Biochem Cytol 9:409, 1961*
32) **Reynolds ES:** *The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol 17:208, 1963*
33) **Leblond CP, Puchtler H, Clermont Y:** *Structures corresponding to terminal bars and terminal web in many types of cells. Nature 186:784, London, 1960*
34) **Mylius EA:** *The identification and the role of the myoepithelial cell in salivary gland. Acta Path Microbiol Scand Sppl 139(5):18, 1960*
35) **Murad TM, Scarpelli D:** *The ultrastructure of medullary and scirrhous mammary duct carinoma. Nat Inst Health U.S. Public Health Service 50(2): 335, 1967*
36) **Murad TM, Von Haam E:** *Ultrastructure of myoepithelial cells in human mammary gland tumors. Cancer 21:1137, 1968*
37) **Ozzello L, Sanpitak P:** *Epithelial-stromal junction*

of intraductal carcinoma of the breast. Cancer 26: 1186, 1970

38) **Gould VE, Miller J, Jao W:** *Ultrastructure of medullary, intraductal, tubular and adenocystic breast carcinomas. Am J Pathol 78(3):401, 1975*

39) **Buell RH, Trembly G, Rowden G:** *Distribution of adenosin triphosphatase in infiltrating ductal carcinoma and non-neoplastic breast. Cancer 38:875, 1976*

40) **Warburton MJ, Ormerod EJ, Monaghan P, Ferns S, Rudland PS:** *Characterization of a myoepithelial cell line derived from a neonatal rat mammary gland. J Cell Biol 91:827, 1981*

41) **Warburton MJ, Mitchell D, Ormerod EJ, Rudland PS:** *Distribution of myoepithelial cells and basement membrane proteins in the resting, pregnant, lactating and involuting rat mammary gland. J Histochem Cytochem 30(7):667, 1982*

42) **Franke WW, Schmid E, Freudenstein C, Appelhans B, Osborn M, Weber K, Keenan TW:** *Intermediate-sized filaments of the prekeratin type in myoepithelial cells. J Cell Biol 843:633, 1980*

43) **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*

44) **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. Virochows Arch (Pathol. Anat) 405:311, 1985*

45) **Ahmed A:** *Atlas of the ultrastructure of human breast diseases. Churchill Livingstone Edinburgh, 1978, p88*

46) **Gown AM, Vogel AM:** *Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins, Distribution of filament proteins in normal human tissues. Am J Pathol 114:309, 1984*

47) **Moore BW:** *A soluble protein characteristic of the nervous system. Biochem Biophys Res Commun 19: 739, 1965*

48) **Ozzello L:** *Ultrastructure of the human mammary gland. Pathol Ann 6:1, 1971*

49) **Fisher ER:** *Ultrastructure of the human breast and its disorders. Am J Clin Pathol 66:291, 1976*

50) **Hamperl H:** *The myothelia (Myopeithelial cells): normal state; regressive changes; hyperplasia; tumors. Curr Top Pathol 53:161, 1970*

51) **Sykes JA, Recher L, Jernstrom PH, Whitescaver J:** *Morphological investigastion of human breast cancer. J Nat Cancer Inst 40:195, 1968*

52) **Bussolati G, Alfani V, Weber K, Osborn M:** *Immunocytochemical detection of actin on fixed and embedded tissues, its potential use in routine pathology. J Histochem Cytochem 28:169, 1980*

53) **Hibbs RG:** *The fine structure of human eccrine sweat glands. Am J Anat 103:201, 1958*

54) **Rosai J:** *Ackerman's surgical pathology. 6th ed. Mosby, St. Louis, 1981 p575*

55) **Vracko R:** *Basal lamina scafold-anatomy and significance for maintenance of orderly tissue structure. Am J Pathol 77:314, 1974*

56) **Yoita H, Foidart JM, Katz SI:** *Localization of the collagenous component in skin basement membrane. J Invest Derm 70:191, 1978*

57) **Foidart JM, Bere EW, Yaar M, Rennard SI, Gullino M, Martin GR, Katz SI:** *Distribution and immunoelectron microscopic localization of laminin. A non-collagenous basement membrane glycoprotein. Lab Invest 42:336, 1980*

58) **Gallager HS, Martin JE:** *Early phases in the development of the breast cancer. Carcer 24:1170, 1969*

59) **Ozzello L:** *The behavior of basement membranes in intraductal carcinoma of the breast. Am J Pathol 35:887, 1959*

60) **Bauer EA. Gordon JM, Reddick ME, Eisen AZ:** *Quantitation and immunocytochemical localization of human skin collagenase in basal cell carcinoma. J Invest Derm 69:363, 1977*

61) **Liotta LA, Lanzer WL, Garbisa S:** *Identification of a type V collagenolytic enzyme. Biochem Biophys Res Commun 98:184, 1981*

62) **Reagan JW:** *Microinvasive carcinoma of the uterine cervix. Am J Clin Pathol 52 (5):511, 1969*

63) **Liotta LA, Foidart JM, Robey GP, Martin GR, Guillino PM:** *Identification of micrometastasis of breast carcinomas by presence of basement membrane collagen. Lancet ii:146, 1979*

64) Wolf PL: *The importance in identifying tumor markers. In: Tumor associated markers. Masson Publishing U.S.A. Inc. New York, p 1, 1980*

65) **MacDonald I:** *The natural history of mammary carcinoma. Am J Surg 111:435, 1966*

66) **Gabbiani G, Lelous M, Bailey AJ, Bazin S, Delaunday A:** *Collagen and myofibroblasts of granulation tissue. A chemical, ultrasturctural and immunolo-*

gical study. Virchows Arch B Cell Pathol 21:133, 1976

— **Abstract** —

Morphologic Changes of the Parenchymal-Stromal Junction in Infiltrating Duct Carcinoma of the Breast

—Immunohistochemical and Ultrasturctural Features of Myoepithelial Cell, Basement Membrane and Stromal Fibroblast—

Min Cheol Lee

Department of Pathology, Chonnam University Medical School

The morphologic study of noninfiltrating and infiltrating duct carcinima of the breast disclosed profound alterations along the parenchymal-stromal junction. But fate of myoepitahelial cell, changes of basement membrane and the relationship of fibroblast to myofibroblast remain uncertain.

To study the morphologic changes of myoepithelial cell, basement membane and stromal fibroblast, a series of 32 not otherwise specified (NOS) type of infiltrating duct carcinoma of the breast with regional lymph node metastases was examined light microscopically after S-100 protein immunoperoxidase staining by biotin-avidin system (BAS) and ultrastructurally. The results were as follows.

1) In 18 out of 32 cases, S-100 protein positive myoepithelial cells were observed individually in the parenchyma at the periphery of some carcinomatous duct-like structures or cancer cell nests. The cells were noted in 7 cases of metastatic regional lymph nodes. In 5 cases contained with 2 cases of infiltrating duct carcinoma with focal sarcomatous metaplasia, S-100 protein positive cells were seen in fibroblast-like spindle cells in stroma adjacent to cancer nests.

2) Ultrastrural features of myoepithelial cells showed significant loss of fine microfilament · and hemidesmosomes and relative increase of coarse large filaments. Morphologic transformation of myoepithelial cells to neoplastic epithelial cells or stromal fibroblast-like spindle cells were suggested in 3 NOS type and 2 metaplastic type carcinomas.

3) The ultrastructural changes of basement membrane disclosed some variations from case to case and even within a single tumor if large number of blocks were studied. Focal, destruction, splitting, segmentation and extensive loss of basement membrane arround cancer nests were noted. On the other hand, basement membrane material surrounded cancer nests or individual cancer cells irregularly.

4) Most stromal fibroblasts in infiltrating duct carcinoma had abundant rough endoplasmic reticulum with enlarged plump cytoplasm. Some of them were transformed to myofibroblasts which had perinuclear rough endoplasmic reticulum and peripheral microfilaments with dense bodies in their cytoplasm.

Key Words: Breast cancer, Myoepithelial cell, Basement membrane, Fibroblast, Myofibroblast

Legend for Figures

Fig. 1. Myoepithelial cells in normal mammary gland and a few of discrete individual cells of infiltrating duct carcinoma disclose strong positive staining (x200).

Fig. 2. No staining in infiltrating duct carcinoma of the breast is noted, but peripheral nerve fibrils show positive staining (x200).

Fig. 3. Peripheral spindle cells in noninfiltrating duct carcinoma disclose strong positive staining (x400).

Fig. 4. Most of cuboidal cells in periphery of infiltrating duct carcinoma with expansile growing disclose negative staining except for weak positive staining in few of them (x400).

Fig. 5. Infiltrating duct carcinoma disclose one or two positive cells in each nest (x400, no hematoxylin counter staining).

Fig. 6. Incomplete duct-like nests of infiltrating duct carcinoma disclose several cells of positive staining (x600).

Fig. 7. A few of discrete individual cells in metastatic nest of regional lymph node disclose strong positive staining (x300).

Fig. 8 & 9. Spindle cells in stroma as well as peripherally located cells in nest of infiltrating duct carcinoma disclose positive staining (x400).

Fig. 10. Infiltrating duct carcinoma with sarcomatous metaplasia disclose positive staining cells in cancer nest and in metaplastic stroma (x200).

Fig. 11. High power view of Fig. 10. show strong positive staining in chondrocyte and spindle cells (x600).

Fig. 12. Parenchymal-stromal junction along a normal mammary gland disclose basket-shaped myoepithelial cells (M), basal lamina (B) composed of lamina rara and lamina densa, and collagenous fibrillar stroma. Portions of epithelial cells (E) are present (x12,000). The myoepithelial cell presents numberous club-like projections which show many hemidesmosomes, and abundant microfilaments with dense bodies (inset, x43,800).

Fig. 13. A myoepithelial cell (M) between epithelial cells (E) of normal mammary gland is located perpendicularly to basement membrane. A few of micropinocytotic vesicles and scant mitochondria are noted (x12,000).

Fig. 14. Parenchymal-stromal junction along a ductule in noninfiltrating duct carcinoma of the breast disclose a cuboidal myoepithelial cell (M), focal splitting of basement membrane (arrow), and an attenuated fibroblast (F) closely contact to basement membrane. The myoepithelial cell (M) present reduced, shorter and thicker microfilaments with dense bodies, hemidesmosomes and appearance of ribosome, rough endoplasmic reticulum and mitochondria in perinuclear cytoplasm (x12,000).

Fig. 15. A nest of infiltrating duct carcinoma of the breast disclose a peripheral compressed myoepithelial cell (M) located between cancer cells (E) and disintegrated basement membrane (arrow). Scant microfilaments with dense bodies and a few of hemidesmosomes are noted (x6,000).

Fig. 16. Protion of ductal differentiation in infiltrating duct carcinoma disclose a peripherally located myoepithelial cell (M) which show significantly decreased microfilaments and appearance of abundant cell organelles, such as rough endoplasmic reticulum, mitochondria, ribosome, and micropinocytotic vesicles (x18,000).

Fig. 17. A nest of infiltrating duct carcinoma of the breast is present. Two types of cancer cells, dark (Ed) and light (El) are noted (x9,000).
Intracytoplasmic lumen with microvilli is shown in another cancer cells (inset, x15,000).

Fig. 18. The myoepithelial cell (M) is very similar to dark cancer cell (Ed) except for scant amount of microfilament and dense bodies (x15,000).

Fig. 19. 20. & 21. Light microscopic area of Fig. 8. & 9. are presented. Rough endoplasmic reticulum-rich fibroblast-like spindle cell (Sf) is located between cancer cells (E) of infiltrating duct carcinoma (Fig. 19. x12,000) or between cancer cells and attenuated basement mimbrane (Fig. 20. x12,000) or between attenuated basement and stromal active fibroblast (F, Fig. 21. x13,500).

Fig. 22. & 23. A cancer cell (E) emerges through a gap of the basement membrane (arrow) and directly attached to collagenous stroma of fibroblast (x18,000).

Fig. 24. & 25. Inflammatory cell infiltrations, such as lymphocyte (L) and neutrophils (N), with irregular break-down of basement membrane (x7,500).

Fig. 26. Marked irregularity of basement membrane in infiltrating duct carcinoma of breast composed of splitting, duplication, variable thickness and intracellular deposition of basement membrane-like material in individual cancer cells (asterisk) are noted (x12,000).

Fig. 27. A nest of infiltrating duct carcinoma (E) is surrounded by stellated cytoplasmic process of rough endoplasmic reticulum-rich activated fibroblast (F, x10,800).

Fig. 28. Appearance of intracytoplasmic microfilamentous material (arrow) in activated fibroblast (F) concomitant with decreased rough endoplasmic reticulum is noted (x15,000).

Fig. 29. A myofibroblast (Fm) disclose spindle shape, rough endoplasmic reticulum in perinuclear cytoplasm, characteristic abundant microfilaments with dense bodies in peripheral cytoplasm. A portion of cancer cell (E) and collagenous fibrils (C) are attached in each side (x20,400).