

## 정상조직과 증식성 및 종양성 병변에서의 Nucleolar Organizer Regions

고려대학교 의과대학 부속 혜화병원 병리과

김 준 미 · 김 인 선 · 백 승 룡

### 서 론

세포의 증식은 정상적인 세포에서도 일어날 수 있는 생체 현상으로서 각종 질환에서 증식속도는 질병의 진단과 치료 및 예후에 지대한 영향을 미친다. 따라서 직접 또는 간접적인 방법으로 세포증식성을 측정하는 것은 외과병리를 실행함에 있어 필수적인 요건이 된다<sup>1)</sup>. 이를 위하여 고식적으로 광학 현미경상에서 유사분열의 수를 세는 것이 가장 널리 이용되고 있으나 셀 수 있는 유사분열기는 단지 세포의 분열과정중 일부에 해당할 뿐이며 조직을 즉시 고정하지 않으면 분열이 진행하여 휴지기에 도달하기 때문에 실제의 증식성을 나타내기에는 부정확하다는 사실이 알려져 있다<sup>2)</sup>. 최근에는 autoradiograph를 이용한 연구<sup>3)</sup>, flow cytometry를 이용한 DNA의 측정<sup>4)</sup>, Bromodeoxyuridyl (BuDr) 흡수정도 측정<sup>5)</sup>, 또는 Ki 67 항체를 이용한 면역효소염색등<sup>6)</sup>이 이용되기도 하지만 autoradiograph나 flow cytometry를 이용한 방법은 복잡하고 시간의 소모가 많다는 단점이 있으며, Ki 67 항체를 이용한 방법은 동결절편조직이 필요하다는 단점이 있다<sup>7)</sup>. 그러나 최근 은기호성(argyrophilia)을 이용하여 nucleolar organizer region (Ag-NORs)을 염색하는 방법이 소개되어 세포의 증식능력을 간접적으로 반영해준다는 사실이 알려지고 있다<sup>8-12)</sup>.

Ag-NORs은 5개의 선두 부착 염색체(acrocentric chromosome)의 2차 압축점에 존재하는 DNA 고리인데<sup>13)</sup> 아직 그 생화학적인 특성은 잘 밝혀지지 않았으나

이 부위에 단백질 합성에 필수적인 ribosomal RNA의 유전자가 위치하고 있다고 알려져 있다<sup>14)</sup>. NOR은 은기호성이 있으므로 쉽게 염색할 수 있는데 이러한 NOR 단백질의 은기호성은 ribosomal RNA에 의한 전사(transcription) 능력의 표지자로 사용 가능하므로<sup>14,15)</sup> 증식성 병변이나 종양조직에서 Ag-NORs의 숫자를 세어 세포의 활동성을 상대적으로 추정해 볼 수 있다.

현재까지 Ag-NORs 염색에 대한 연구는 외국에서 몇몇 장기 및 질환<sup>8-12,31-34)</sup>에 한정되어 행해졌고 국내에서 김등<sup>16)</sup>이 악성 임파종에서 시행해본 보고만이 있을 뿐 각 장기별로 정상조직과 여러가지 증식성 병변, 양성종양, 경계성 병변, 악성종양등에서 생물학적인 세포 활동성에 따른 Ag-NORs 숫자의 변동에 대한 연구는 시도되지 않았다. 따라서 저자는 Ag-NORs 염색을 여러 장기에 생긴 다양한 질환의 조직표본에 시행하여 세포증식성에 대한 지표로서 Ag-NORs의 응용가치를 평가해 보고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 1. 재 료

연구재료로는 1987년 1월부터 1988년 7월까지 고려대학교 부속병원에서 외과적으로 절제되었거나 부검이 시행되었던 조직표본중에서 통상적인 파라핀 포매후 H&E로 염색된 현미경 표본을 재검토하여 각 장기의 정상조직 15예를 선정하였고 각 장기로부터 생길 수 있는 대표적 질환으로서 증식성 병변 12예, 양성종양 30예, 경계성 병변 4예, 악성종양 83예등 총 144예를 대상으로 하였다.

\*본 논문의 요지는 1988년 10월 21일 대한병리학회 제40차 추계학술 대회에서 발표되었음.

## 2. 방 법

1) 통상적인 포르말린 고정과 파라핀 포매를 거친 조직을 5~6 μm 두께의 절편으로 만들어 슬라이드에 부착시킨다.

2) Xylene으로 탈파라핀하고 100%, 95% 및 70% 알콜에서 합수시킨다.

3) 증류수에서 합수시킨 슬라이드 전체에 silver colloid 용액을 고루 덮은 다음 빛을 차단하도록 뚜껑을 덮어 실온에서 정확하게 40분간 반응시킨 후 증류수로 깨끗이 세척하고 탈수시켜 glycerine jelly로 봉입한다. Silver colloid 용액은 1% formic acid 용액에 gelatin을 2%가 되도록 녹인 용액과 50% silver nitrate 용액의 비율이 1:2가 되도록 섞어 만든다.

## 3. 염색반응의 결과판정

광학 현미경으로 유침하에서 관찰하여 임의로 100개의 세포를 선정하였으며 각각의 세포핵 내에서 진한 갈색으로 염색된 Ag-NORs를 세어 세포당 평균 NOR 숫

자로 표시하였고 각 표본에서 세포당 Ag-NORs수의 범위와 평균을 구하였다.

$$\left( \text{평균} = \frac{\sum(\text{세포당 Ag-NORs수} \times \text{해당 세포수})}{100} \right)$$

동일 표본일지라도 부위에 따라 NOR 수의 차이가 예상되는 조직, 즉 위장관 점막의 표면과 기저부, 임파성 조직의 여포와 외피부 및 피막하부, 흉선의 피질부와 수질부등은 부위를 나누어서 숫자를 세었다.

## 4. 통계학적 검증

Ag-NORs수의 정상군과 질환군의 비교 및 각 질환군 간의 비교를 위해 student t-test를 시행하였다.

## 결 과

Nucleolar organizer region (NOR)은 핵내에서 진한 갈색으로 염색되면서 경계가 분명한 은기호성 점으로 나타났는데 이는 거의 모든 핵에서 관찰되었으며 경우에 따라서는 점이 모여 송이 모양을 만들거나 점보다 크기가 작은 미세한 분말 형태로 관찰되기도 하였다. 핵은

Table 1. Distribution of Ag-NORs in normal tissues

No. of Ag-NORs Type of cells	0	1	2	3	4	5	6	Mean Ag-NORs
<b>Stable cell</b>								
Hepatocyte	1	56	39	4				1.46
Smooth muscle	56	43	1					0.45
Skeletal muscle	16	74	10					0.94
Glial cell	3	78	19					1.16
<b>Labile cell</b>								
GI mucosa								
Surface		39	42	15	4			1.84
Pit		18	22	38	16	5	1	2.71
Uterine cervix	1	40	45	13	1			1.73
Larynx		14	31	33	19	3		2.66
Endometrium								
Proliferative		44	43	10	3			1.72
Secretory		63	29	7	1			1.46
Breast		65	32	3				1.38
Testis, germ cell		36	25	22	9	7	1	2.29
Urinary bladder		29	26	30	12	1		2.28
Thymus								
Cortex		18	23	27	18	4		2.57
Medulla		20	25	10	10	5		2.44
Tonsil								
GC		35	18	21	14	9	3	2.53
MZ		92	7	1				1.09
Lymph node								
GC		26	29	21	13	9	3	2.47
MZ		86	14					1.14
Interfollicula	1	91	8					1.07

Abbreviations : GC ; germinal center MZ mantle zone

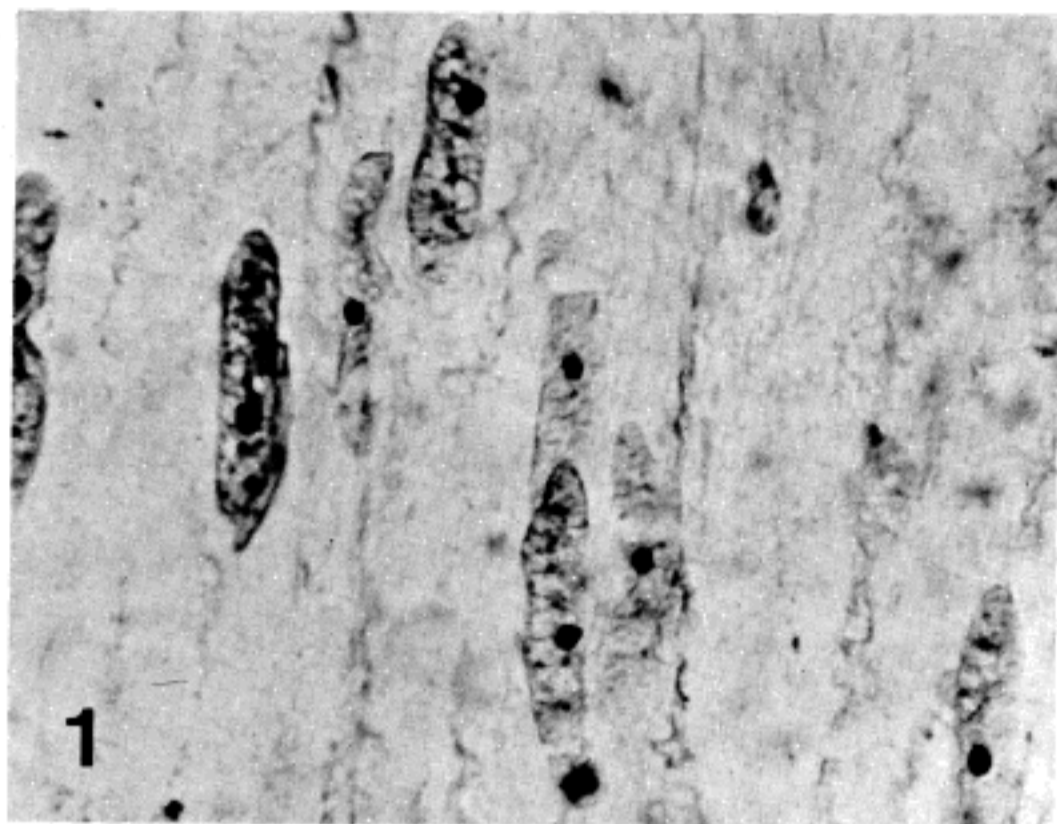


Fig. 1. Normal smooth muscle cells. There is only one black dot in each cell. (Silver stain, x 1,000)

연한 갈색으로 염색되었고 세포질은 노란색으로 염색되었다. 각 표본에 대한 Ag-NORs의 숫자 및 범위는 표 1~7과 같았다.

**정상 조직 (Table 1)**

위장관의 표면 원주상피세포, 자궁 경부 및 후두의 편평상피세포, 요로의 이행상피세포, 증식기 자궁내막 및 유방의 선세포와 같은 불안정성 세포는 세포당 평균 Ag-NORs의 숫자가 각각 1.84, 1.73, 2.66, 2.28, 1.72 및 1.38로서 간세포, 평활근세포, 골격근세포, 신경교세포 등과 같은 안정성 세포의 Ag-NORs 수인 1.46, 0.45, 0.94, 1.16에 비해 그 숫자가 많았으며 특히 고환의 생식세포, 흉선, 편도선이나 림프절의 배중심은 2.29, 2.44, 2.53, 2.47등의 더욱 많은 Ag-NORs수를 보인 반면 편도선과 림프절의 mantle zone에서는 각각 1.09 및 1.14로 낮은 수치를 보였고 림프절의 여포간에서는 1.07로 더욱 낮았다.

세포당 관찰되는 Ag-NORs 숫자의 범위는 안정성 세포에서 0개 내지 3개 이면서 Ag-NORs이 없거나 세포당 1개인 것이 대부분이었으나(Fig. 1) 불안정성 세포에서는 0개 내지 6개로 범위가 좀더 넓으면서 세포당 1개 내지 3개인 세포가 89.2%를 차지하였다. 또한 같은 조직이라 할지라도 부위에 따라 세포 활동성이 다를 때에는 Ag-NORs 숫자도 달랐는데 가령 위장관 점막의 원

주상피는 표면부에서는 1.84인 반면 기저부에서는 2.71이었고 증식기의 자궁 내막은 1.73인 반면 분비기에서는 1.46으로 나타났다.

**증식성 병변 (Table 2)**

대상으로 한 12예의 증식성 병변중에서 신경교 증식종에서의 Ag-NORs 수가 세포당 1.27로 가장 낮은 것을 비롯하여 11예에서 2이하의 Ag-NORs 수를 보여 정상 조직의 불안정성 세포와 비슷하였고(Fig. 2) 범위도 0개 내지 5개로 비슷하였으며 흔히 관찰되는 Ag-NORs 수도 95.5%에서 세포당 1개 내지 3개였다. 미만성 갑상선 증식종의 경우 평균 Ag-NORs 숫자가 2.14로 다른 증식성 병변에 비해 예외적으로 높은 수치를 보였다.

**양성 종양 (Table 3)**

양성종양은 모두 30예였는데 대부분 평균 Ag-NORs 숫자가 2개 이하로서 정상조직 또는 증식성 병변과 비슷하였으며(Fig. 3) 2개 이상을 갖는 경우는 7예로서 갑상선의 여포상선종(2.03), 유방의 관상선종(2.27), 편평상피세포 유두종(2.06), 비강에 생긴 도립성 유두종(2.28), 신경섬유 초종 2예중 1예(2.19), 골격에 생긴 거대세포 종양(2.44), 호산구성 육아종(2.50) 등이 여기에 속하였다. 1도 성상 교세포종 2예를 이군에 포함시켰는데 Ag-NORs 숫자가 1.58 및 1.98로 다른 양성종양과 비슷

Table 2. Distribution of Ag-NORs in reactive and hyperplastic lesions

No. of Ag-NORs Condition (case)	0	1	2	3	4	5	Mean Ag-NORs
Thyroid							
NH (2)		36	41	19	2	2	1.93
-		72	27	1			1.29
DH		24	42	30	4		2.14
Endometrium							
Hyperplasia (2)	4	36	42	15	3		1.77
-	3	41	48	6	2		1.63
Uterine cx							
Metaplasia (2)	10	53	32	4	1		1.33
-	8	43	42	6	1		1.49
Gliosis		71	29				1.27
Fibrocystic dz		79	35	6			1.67
Cirrhosis		50	34	10	6		1.72
Lymphadenopathy		71	19	6	2	2	1.45
Prostate, gland							
NH		55	29	12	3	1	1.66

Abbreviations : NH : nodular hyperplasia  
 DH : diffuse hyperplasia

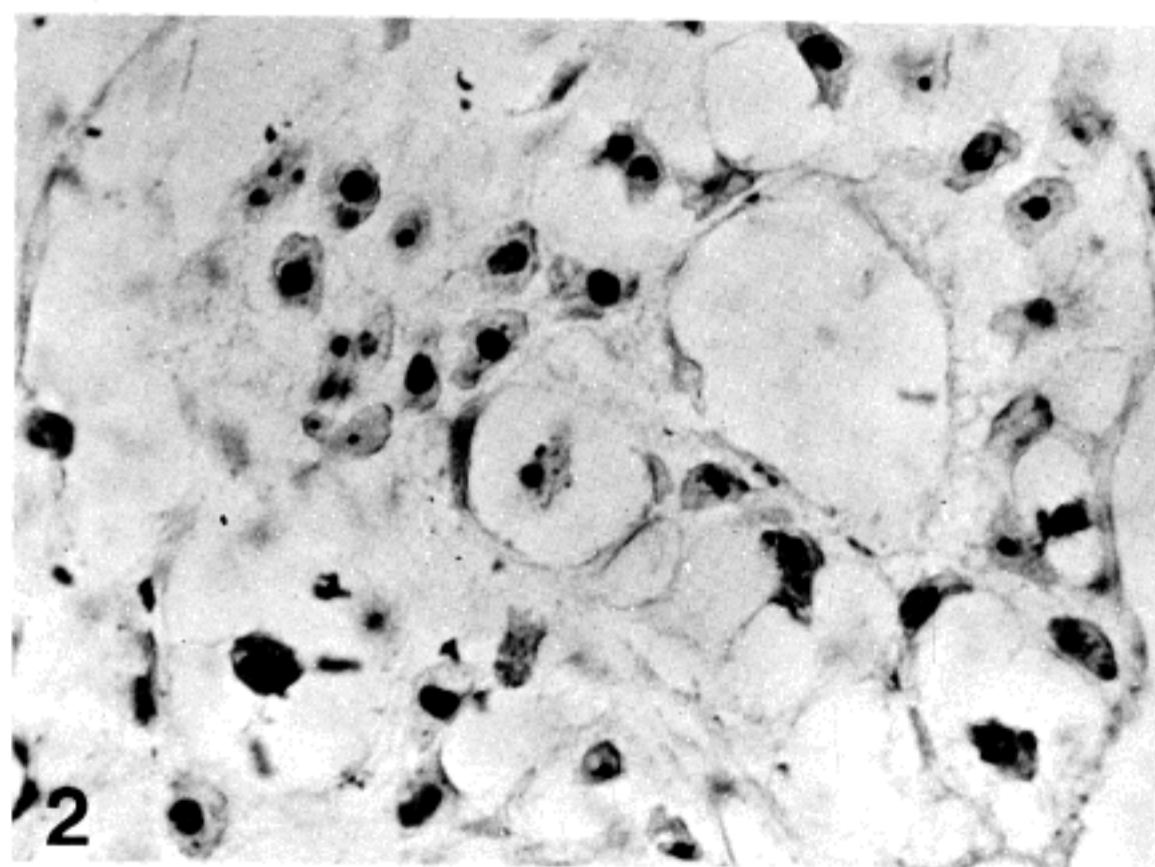


Fig. 2. Fibrocystic disease of breast. One or two prominent Ag-NORs are seen. (Silver stain, x 1,000)

한 결과를 얻었다.

양성종양의 범위는 세포당 0개 내지 6개로 증식성 병변과 큰 차이를 보이지 않았고 흔히 관찰되는 Ag-NORs 숫자는 0개 내지 3개로서 95.2%를 차지하였다.

#### 경계 종양 (Table 4)

경계 종양은 난소의 공통상피 종양중 경계 병변 2예

및 자궁 경부의 이형성 2예를 대상으로 하였는데 난소의 경계 병변은 세포당 평균 Ag-NORs 수 1.75로 대응하는 양성 종양의 평균인 1.03과 악성 종양의 평균인 2.71의 중간 정도를 보였다. 그러나 자궁 경부의 이형성의 경우는 세포당 평균 Ag-NORs 수 1.31로서 정상 자궁경부상피의 1.33과 비슷하였다.

Table 3. Distribution of Ag-NORs in benign neoplasms

No. of Ag-NORs Condition (case)	0	1	2	3	4	5	6	Mean Ag-NORs
<b>Adenoma</b>								
Pituitary		88	11	1				1.10
Parathyroid		53	28	13	6			1.52
Thyroid	1	39	30	20	8	1	1	2.03
Ovary (2)	26	51	19	4				1.01
	19	61	17	3				1.04
Pleomorphic		52	35	11	2			1.63
Tubular, bresat	1	27	36	22	8	8	6	2.27
Fibroadenoma (2)		39	41	19	1			1.79
	48	34	8					1.49
<b>Papilloma</b>								
Squamous cell		26	47	22	5			2.06
Inverted, nasal cavity		31	26	20	15	3	5	2.28
Thymoma (2)	3	80	10	6	1			1.23
		57	29	11	3			1.60
Carcinoid, thymus		50	33	9	8			1.75
Nevus	5	89	5	1				1.02
Rhabdomyoma		46	42	11	1			1.67
Leiomyoma		87	12	1				1.14
Enchondroma		68	29	3				1.35
F. histiocytoma (2)		36	47	16	2			1.85
		55	33	7	5			1.62
Fibromatosis		52	21	14	4	2		1.74
Neurofibroma		80	17	3				1.23
Neurilemmoma (2)		47	38	14	1			1.69
		38	45	15	2			2.19
Meningioma	44	42	11	2	1			0.74
Astrocytoma, grade 1 (2)	5	52	29	9	4	1		1.58
		35	39	20	5	1		1.98
GCT	2	22	30	31	9	3	3	2.44
Histiocytosis X		9	43	38	9	1		2.50
Castleman's Dz		58	17	9	8	3		1.97

Abbreviations : GCT ; giant cell tumor of bone

### 악성 종양

악성 종양은 크게 암종군, 육종군, 림프종군으로 구분하였으며 각 군에 따른 Ag-NORs 염색 결과는 다음과 같았다.

1) 암종 (Table 5) : 암종은 모두 60예 였는데 52예에서 2 이상의 많은 Ag-NORs 수를 보였고 (Fig. 4) 2 이하의 숫자를 보인것은 위장관에 생긴 선암 9예중 1예 (1.93) 및 점액성 선암 (1.78), 후두의 편평상피 세포암 6예 중 1예 (1.63), 갑상선의 유두암 3예중 3예 모두 (1.12, 1.39, 1.96), 폐장에 생긴 선양낭포암 (1.94) 및 점액성 기

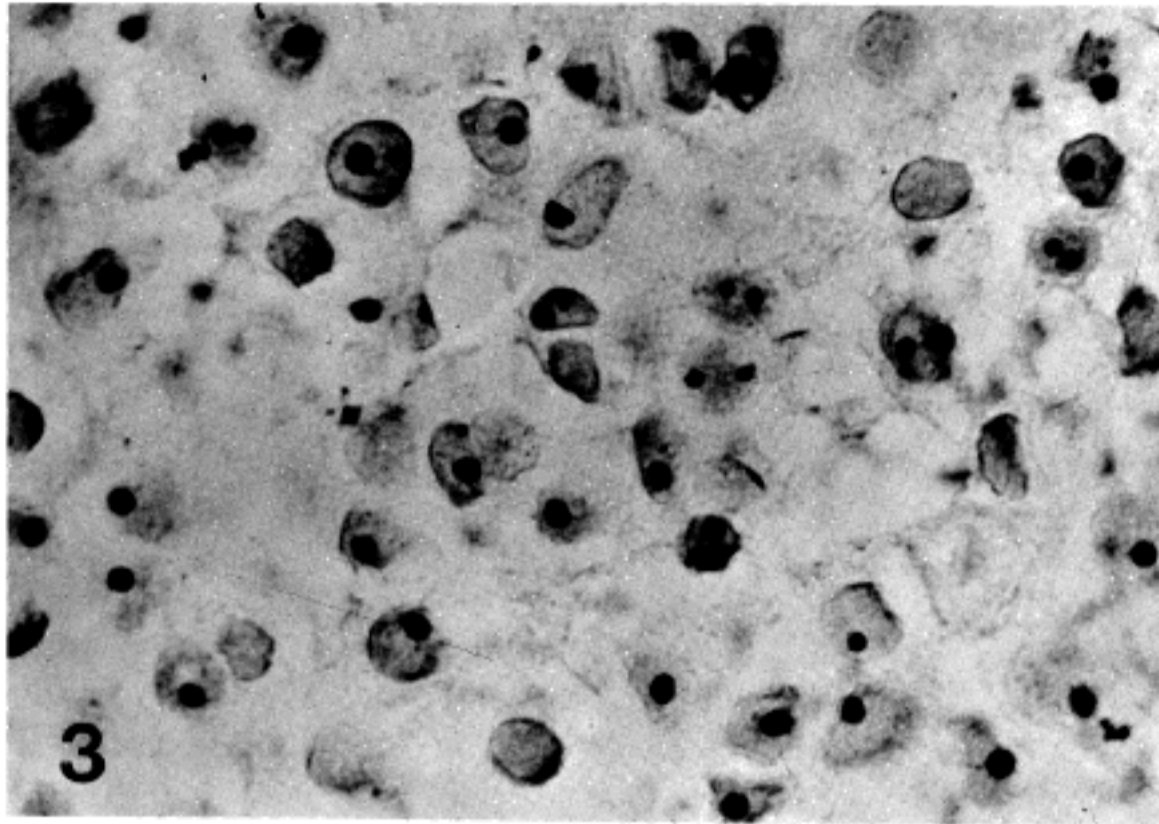


Fig. 3. Pituitary adenoma. Most of the nuclei possess only one or two uniform Ag-NORs. (Silver stain, x 1,000)

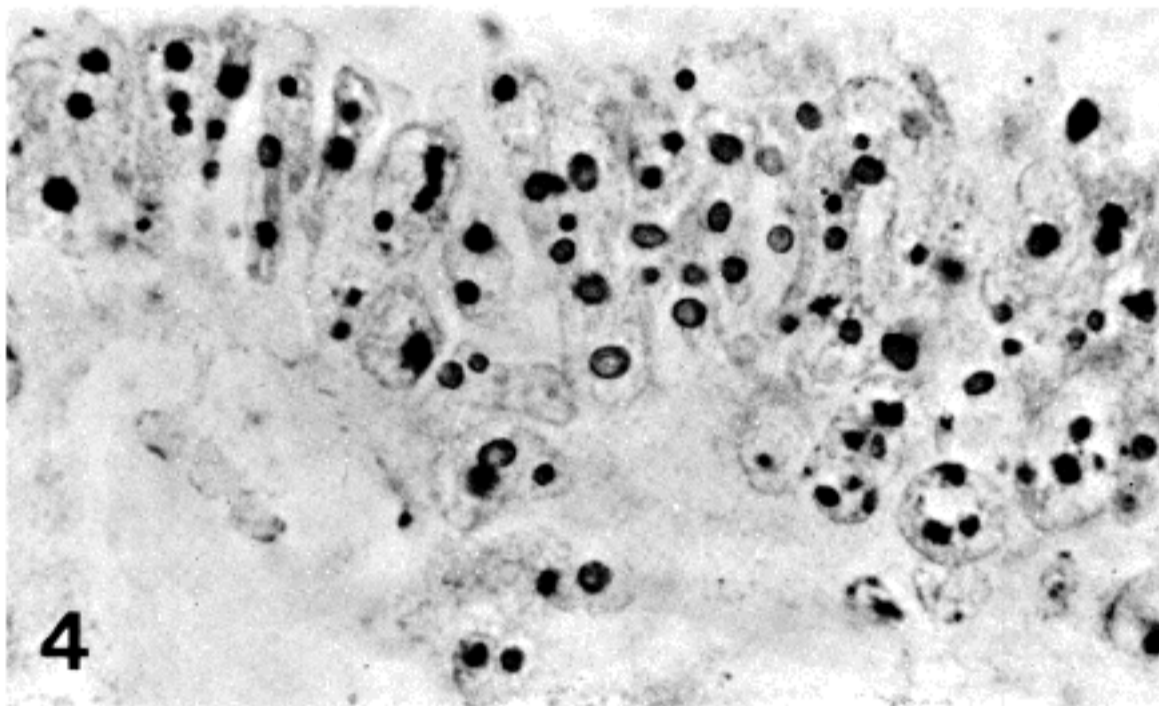


Fig. 4. Adenocarcinoma of the stomach shows many Ag-NORs. (Silver stain, x1,000)

Table 4. Distribution of Ag-NORs in borderline lesions

No. of Ag-NORs Condition (case)	0	1	2	3	4	5	Mean Ag-NORs
Uterine cervix Dysplasia (2)	18 22	43 34	33 31	5 31	1 1		1.27 1.35
Ovary Borderline (2)	2 1	31 44	47 43	19 10		2	1.82 1.68

Table 5. Distribution of Ag-NORs in carcinomas

No. of Ag-NORs Condition (case)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Mean Ag-NORs
<b>Adenocarcinoma</b>													
<b>GI tract</b>													
WD (3)	7	29	37	16	5	5	1						2.92
	44	32	15	5	4								1.93
	1	5	16	20	23	16	13	1	1	2	2		5.00
MD (3)	30	22	11	22	12	8	3	1					3.72
	48	18	17	7	7		1	2					2.21
	33	24	21	11	6	1	3		1				2.54
PD (3)		19	27	23	15	10	6						3.88
	7	22	24	14	13	8	3	5	1	1		1	3.86
	12	21	18	20	9	5	3	6	3	2			3.92
Mucinous	47	32	17	4									1.78
<b>Prostate</b>													
WD (2)	16	39	21	17	4	3							2.63
	28	21	28	12	3								3.38
MD (2)	35	31	18	13	1	1	1	1					2.21
	27	45	20	7	1								2.10
PD (2)	36	22	33	6	2	1							2.19
	25	30	33	10	2								2.34
Endometrium (3)	12	25	32	18	11	2							2.97
	14	36	35	12	3								2.54
	8	19	25	4	16	10	3	3	1	3			3.81
Uterine gland	1	15	29	28	18	6	2	1					3.78
Urethra		3	5	14	13	20	12	9	7	8			6.03
Lacrimal gland		6	12	11	19	20	9	4	5	8	3	3	5.87
<b>Metastatic to</b>													
Ovary	2	16	13	11	13	15	8	6	7	3	4	2	5.37
Bone	29	40	12	10	4	2	1	2					2.40
<b>Squamous cell ca.</b>													
<b>Larynx</b>													
WD (2)	22	27	30	21									2.50
	11	22	26	24	9	6	2						3.24
MD (2)	35	31	16	11	6	1							2.25
	51	36	12	1									1.63
PD (2)	20	22	23	18	14	3							2.93
	35	27	15	17	5	1							2.33
<b>Uterine cervix</b>													
CIS (2)	13	46	34	7									2.35
	14	28	26	25	6								2.80
Invasive (4)	6	17	39	24	9	4	1						3.29
	19	31	28	11	9	1	1						2.67
	9	45	27	13	4	1	1						2.65
	7	39	42	9	2	1							2.63
<b>TCC, urinary bladder</b>													
Grade II (3)	17	38	25	17	3								2.51
	7	26	22	26	9	9		1					2.36
	13	25	39	16	6		1						2.72
III (4)	7	11	15	16	15	2	2						2.39
	30	41	21	8									2.07
	9	19	35	21	12	3	1						2.21
	10	14	30	27	15	4							3.35

Table 5. Continued

No. of Ag-NORs Condition (case)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Mean Ag-NORs
Infiltrating ductal ca. (4)	5	8	26	13	22	14	5	3	1	2	1		4.44
	8	22	27	21	15	5	1						3.44
	1		7	10	18	17	18	9	5	7	5	2	6.46
	28	35	18	7	7	4	1						2.46
Papillary ca., thyroid (3)	88	12											1.12
	48	35	7										1.39
	41	33	17	7	2								1.96
Ovarian serous or mucinous ca. (3)	14	37	32	14	2	1							2.56
	11	36	29	14	10								2.76
	9	29	39	19	3	1							2.81
Dysgerminoma Seminoma	40	34	9	9	3	2	2			1			2.22
	9	23	29	18	15	4	1	1					3.28
A-C ca. Lung	40	36	15	8	1								1.94
	18	25	38	15	4								2.62
Scalp HCC	3	15	31	28	13	9	1						3.64
B-A ca, mucinous Melanoma	73	18	8	1									1.37
	21	39	28	10	3								2.38

Abbreviations : WD ; well differentiated  
 MD ; moderately differentiated  
 PD ; poorly differentiated  
 TCC ; transitional cell carcinoma  
 HCC ; hepatocellular carcinoma  
 A-C ; adenoid cystic  
 B-A ; bronchioloalveolar

Table 6. Distribution of Ag-NORs in sarcomas

No. of Ag-NORs Condition (case)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Mean Ag-NORs
Rhabdomyosarcoma (2)	5	21	21	25	16	7	3			3.69
		26	40	22	8	4				3.24
Leiomyosarcoma (2)	25	36	20	11	5	2	1			2.45
	45	35	13	6	1					1.83
Liposarcoma (2)	25	28	19	14	9	4	1			2.70
	1	19	25	24	14	6	7	2	2	3.99
MFH (2)	35	47	4	8	3					1.97
	24	28	29	12	4	3				2.53
Chondrosarcoma	8	24	41	18	6	3				2.99
Malig. Schwannoma	44	36	17	3						1.79
Bednar	25	32	27	13	2	1				2.38
Astrocytoma, grade 2,3 (3)	24	25	23	11	11	4	2			2.80
	10	25	27	15	13	4	2	4		3.26
	19	42	34	4	1					2.26
GM	26	33	18	11	9	3				2.53

Abbreviations : MFH ; malignant fibrous histiocytoma  
 GM ; glioblastoma multiforme



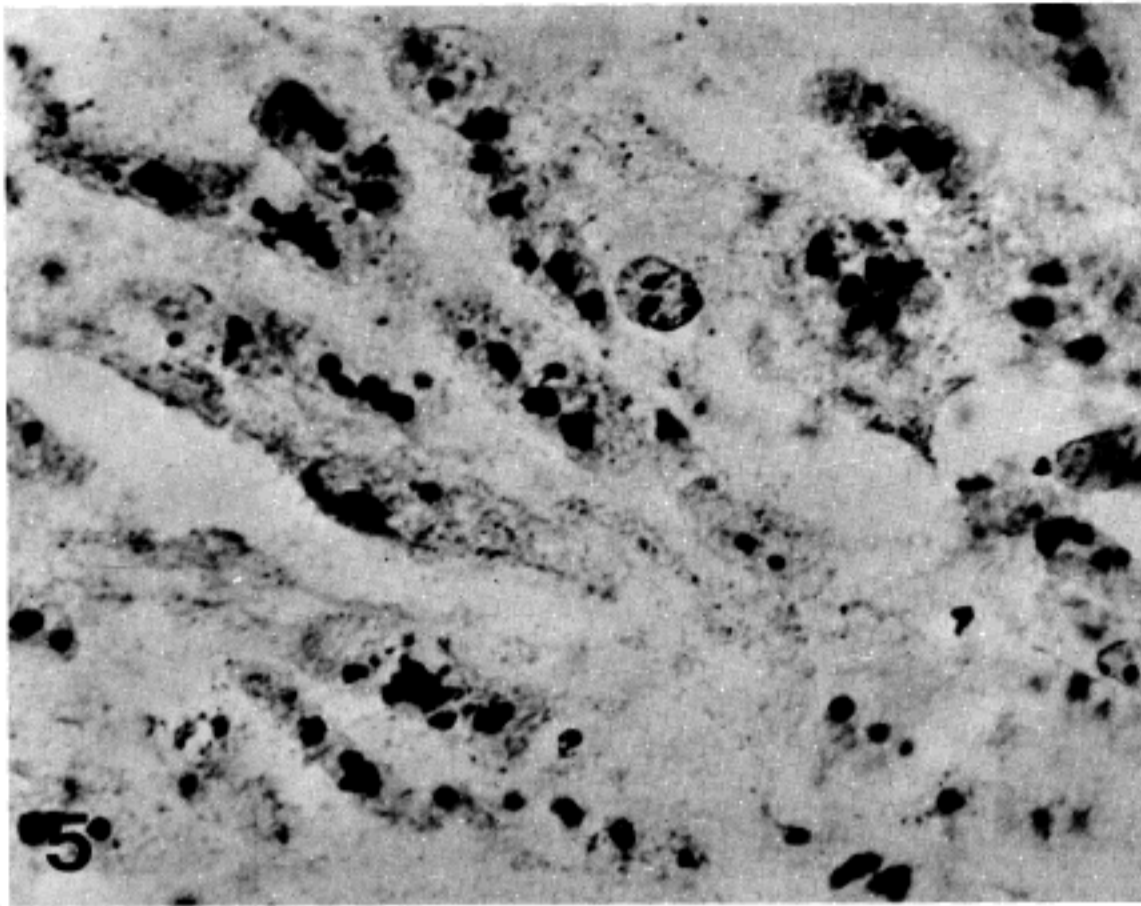


Fig. 5. The tumor cells in leiomyosarcoma contain multiple irregularly clumped Ag-NORs. (Silver stain, x 1,000)

관지 폐포암(1.37) 등 총 8예였다.

세포당 Ag-NORs 숫자의 범위를 보면 갑상선 유두암 2예와 점액성 선암, 점액성 기관지 폐포암 등 4예를 비롯하여 그외 4예를 포함한 8예에서 1개 내지 4개로 비교적 그 범위가 좁았지만 40예에서 6개 이상까지의 넓은 범위를 보였으며 이때 2개 이상의 많은 Ag-NORs 수를 보인 세포는 전체 암종 세포의 79.5%를 차지하였고 유방의 침윤성 관암 1예에서는 세포당 14개까지 보이는 등 대체로 암종에서는 세포당 Ag-NORs 숫자가 많을 뿐 아니라 그 분포 범위도 넓었다. 주로 관찰되는 숫자는 62.9%에서 2개 내지 4개로 나타났다.

선암과 편평 상피암의 경우 Ag-NORs 숫자와 분화도의 관계를 보면 위장관에서 발생한 분화가 좋은 선암에서 2.92, 1.93, 5.00이었고 중등도에서는 3.72, 2.21, 2.54, 분화가 나쁜 선암에서는 3.88, 3.86, 3.92의 다양한 세포당 평균 Ag-NORs 숫자를 보였고 후두의 편평상피 세포암에서도 분화가 좋은 경우 2.50 및 3.24, 중등도인 경우 2.25 및 1.63, 분화가 나쁜 경우 2.93 및 2.33등으로 나타나 분화도와 Ag-NORs 숫자간에 뚜렷한 상관관계를 보이지 않았으며 자궁경부의 편평상피 세포암의 경우 상피내 암종과 침입성 암종 간에도 Ag-NORs 숫자간에 큰 차이를 나타내지 않았다. 또한 전립선암 및 방광의 이행상피세포암에서도 악성도와 Ag-NORs 숫자간에

상관관계가 관찰되지 않았다.

2) 육종(Table 6) : 15예의 육종중 12예에서 세포당 평균 Ag-NORs 수가 2 이상이었으며(Fig. 5) 예외적으로 평활근 육종 1예, 악성 섬유성 조직구종 1예 및 악성 신경초종 1예가 1.83, 1.97 및 1.79로 2 이하를 보였다.

세포당 Ag-NORs 수의 분포를 보면 11예에서 6개 이상으로 대부분 비교적 넓은 범위를 가지면서 2개 내지 4개의 Ag-NORs 수를 가진 세포가 70%를 차지하였다. 악성 신경초종은 적은 Ag-NORs 수를 보였을 뿐 아니라 범위도 세포당 1개 내지 4개로 좁았고 대부분의 세포가 1개 내지 2개의 Ag-NORs 수를 보였다. 2도 및 3도의 성상 교세포종 3예의 경우 2.80, 3.26 및 2.26으로 나타나 다른 육종과 비슷한 Ag-NORs 숫자를 보였다.

3) 림프종(Table 7) : 림프종은 악성도가 낮은 small lymphocytic lymphoma 1예, 중등도인 diffuse small cleaved lymphoma 2예와 diffuse mixed small and large cell lymphoma 2예 및 diffuse large cell non-cleaved lymphoma 1예, 그리고 높은 악성도를 보이는 lymphoblastic lymphoma 1예 및 immunoblastic lymphoma 1예등을 대상으로 하였는데 악성도가 증가함에 따라 세포당 평균 Ag-NORs 수도 증가하여서 저악성도인 small lymphocytic lymphoma 인 경우 1.17 이고 중등도인 diffuse mixed small and large cell

Table 7. Distribution of Ag-NORs in Non-Hodgkin's lymphomas

No. of Ag-NORs	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Mean Ag-NORs
Condition (case)												
SL	37	10	2	1								1.17
DSC (2)	59	35	6									1.47
	63	30	7									1.14
DMSL (2)	43	41	11	3	2							1.80
	39	40	17	3	1							1.87
DLNC	1	8	11	19	21	21	10	5	2	1	1	5.07
IB		13	30	34	11	9	3					3.82
LB	22	39	29	9	1							2.28

Abbreviations : SL ; small lymphocytic  
DSC ; diffuse small cleaved cell  
DMSL ; diffuse mixed small and large cell

DLNC ; diffuse large cell noncleaved  
IB ; immunoblastic  
LB ; lymphoblastic

lymphoma는 1.47, 고악성도인 immunoblastic lymphoma인 경우 3.82의 숫자를 보였다. 그러나 예외적으로 diffuse large cell noncleaved lymphoma는 악성도는 중등도이나 세포당 평균 Ag-NORs 수는 5.07로서 림프종중 가장 많았다.

이상의 결과를 종합하여 각 병변에 따른 세포당 평균 Ag-NORs 숫자를 도표(Fig. 6)로 그려보면 정상조직의 안정성 세포는 세포당 평균 Ag-NORs 수가 2 이하였고 불안정성 세포는 1내지 3이었으며 증식성 병변과 양성종양, 경계성 병변에서도 대개 이와 비슷한 수치를 보였다. 그러나 악성 종양에서는 Ag-NORs 수가 증가되는 경향을 보여 암종의 경우 그 범위가 1내지 6 이상으로 넓으면서 대부분 2내지 4에 밀집되어 있었고 예외적으로 2 이하의 숫자를 보인 경우는 감상선 유두종 3예, 위장관의 점액암, 폐장의 선양 낭포암과 점액성 기관지 폐포암, 선암 및 편평 상피세포암등에서 각각 1예 였다.

육종의 경우도 대부분에서 2내지 4이상의 비교적 많은 세포당평균 Ag-NORs 수가 관찰되었고 평활근육종, 악성 섬유성 조직구종, 악성 신경초종등이 각각 1예에서 2 이하의 숫자를 보였다.

림프종의 경우는 악성도가 높을수록 세포당 평균 Ag-NORs 수도 높은 것으로 나타났지만 diffuse large cell noncleaved lymphoma의 경우 그 숫자가 5.07로 가장 많았다.

이러한 각 군간의 세포당 평균 Ag-NORs 숫자의 차이를 통계학적으로 검토하였는데 정상조직의 안정세포군과 경계성 병변군은 표본수가 각각 4예씩 불과하였기

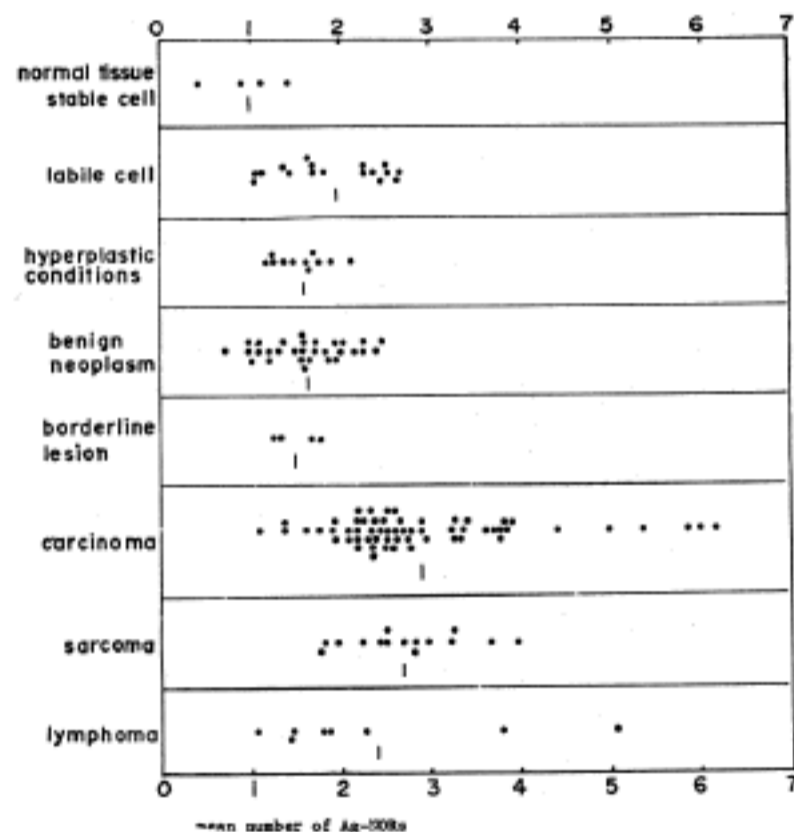


Fig. 6. Scatterogram to show mean numbers of nuclear Ag-NORs for each case. There is difference in distribution of Ag-NORs numbers between normal stable cells and normal labile cells and also between non-malignant conditions and malignant conditions except for lymphoma. The lymphoma shows correlation between Ag-NORs and grades. The horizontal bars indicate mean for each group.

때문에 분석대상에서 제외하였다. 전체 정상조직과 증식성 병변간, 그리고 증식성 병변과 양성 종양간의 비교에서는 세포당 평균 Ag-NORs의 평균값에 통계학적 차

이가 없었으며 암종과 육종간의 비교에서도 평균값의 차이가 없었다. 반면 양성종양과 암종과 비교에서는 두 군간의 평균에 통계학적으로 의미있는 차이가 관찰되었으며( $p < 0.0005$ ) 또한 정상조직, 증식성병변, 양성종양 및 경계병변을 포함하는 비악성 병변군과 암종 및 육종을 포함한 악성 종양군사이에서도 평균값의 차이가 있음이 통계학적으로 검증되었다( $p < 0.005$ ).

## 고 안

Nucleolar organizer region (NOR)은 5개의 선단부 부착 염색체 즉 13, 14, 15, 21, 22번 염색체의 short arm에 존재하는 DNA 고리로서<sup>13)</sup> 이를 구성하는 단백질은 아직 완전히 밝혀지지 않았으나 몇몇 알려진 단백질로는 RNA polymerase I<sup>17)</sup>, 분자량 110 KD의 C23 단백질<sup>18,19)</sup>, C23 단백질과 유사한 분자량 100 KD의 단백질이 있고<sup>20,21)</sup> 최근 핵단백을 immunoblotting하여 밝힌 분자량 80 KD의 단백질도 보고되어 있다<sup>22)</sup>. 이러한 NOR 관련 단백질들은 은기호성이 있어서 쉽게 염색 가능하기 때문에<sup>23,24)</sup> 과거 세포 유전자들은 60°C에서 안정화된 colloid silver 용액을 사용하여 21번 3 염색체증(trisomy) 등과 같이 NOR이 존재하는 염색체를 침범한 3염색체증을 찾아내는데 보조적인 방법으로 사용하여 왔다. 최근에는 기술의 향상으로 인하여 좀더 빠르고 간편한 1단계 염색방법이 가능하게 되었는데<sup>25)</sup> 이 방법은 더욱 개발되어 휴지기과 분열기에 있는 NOR 단백을 미세구조학적으로 나타낼 수 있게 되었으며<sup>26,27)</sup> 그 결과 은과 결합하는 부위는 핵의 섬유성 중심부와 핵소체막의 섬유성 부분이라는 것이 관찰되었다.

1981년 Kacerovska등<sup>28)</sup>은 정상세포, 자극받은 세포, 억제된 세포 및 악성세포등에다가 Ag-NORs 염색을 시행하여 각 경우에서 은기호성을 보이는 점상 구조물의 숫자가 차이가 난다는 사실을 발견하였고 이러한 사실은 Busch등<sup>29)</sup>에 의해 확인되었다. 최근 Ploton등<sup>30)</sup>은 반응 온도를 20°C로 낮춤으로써 파라핀이나 플라스틱에 포매된 조직에서 주변의 염색이 적고 깨끗한 Ag-NORs의 염색을 가능하게 하였고 이 저자들은 K562 전골수구 아세포는 80 내지 120개의 세포당 Ag-NORs을 가지고 있으며 HL 60 세포는 50개의 Ag-NORs을 가지고 있다는 것을 관찰하였다. 또한 파라핀 포매된 전립선 조직에서 악성 세포는 많은 Ag-NORs을 가지고

있고 증식성 전립선에서는 2개, 염증반응으로 나타난 임파구에서는 단지 1개만의 Ag-NORs을 가지고 있다는 것을 발견하였고 따라서 Ag-NORs의 양적 또는 반양적 검색을 함으로써 세포의 활동성 정도 및 악성여부등을 알 수 있다고 제시하였다.

1987년 Crocker와 Nar는<sup>31)</sup> 파라핀에 포매된 non-Hodgkin's lymphoma에 Ag-NORs 염색을 실온에서 시행하였는데 악성도가 낮은 림프종에서 세포당 1개 내지 1.5개의 Ag-NORs 숫자를 보인 반면 악성도가 높은 림프종에서는 4.4개 내지 6.8개를 보여 악성도에 따른 숫자의 차이에 통계학적 의의가 있다고 보고하였다. 그 후 이러한 차이는 모반세포성 모반과 악성 흑색종간에서도 관찰되었고<sup>32)</sup> 아동기에 호발하는 소세포성 종양인 신경아세포종, Ewing씨 육종, 평활근 육종등에서도 각 질환에 따라 Ag-NORs 숫자의 차이가 있어 이러한 질환들을 감별하는데 도움을 줄 수 있는 것으로 나타났다<sup>33)</sup>.

또한 유방에 생기는 악성 종양은 양성질환에 비해 통계학적으로 유의한 Ag-NORs 숫자의 증가를 보였고<sup>10)</sup> 유아기에 생긴 섬유육종 역시 유아기성 수지 섬유종증(infantile digital fibromatosis)이나 유아성 인대양 섬유종증(infantile desmoid type fibromatosis), 또는 유아성 근섬유종증(infantile myofibromatosis) 등에 비해 Ag-NORs 숫자가 많았기 때문에 감별이 용이하였으며<sup>11)</sup> 신경아세포종의 경우 Ag-NORs의 숫자가 감소할수록 분화가 좋고 생존율이 증가하는 추세를 보였다고 하였다<sup>34)</sup>. 그외에도 피하조직의 다양한 종양마다 Ag-NORs의 숫자에 차이가 있기 때문에 감별진단에 유용하다는 보고<sup>32)</sup>가 있고, 정상 간조직과 간경변 및 간암 조직사이에서도 Ag-NORs 숫자에 차이가 있다는 보고가<sup>33)</sup> 있다. 또한 Rowlands<sup>34)</sup>는 자궁경부의 상피내종양에서 이형성의 등급에 따른 Ag-NORs의 숫자적 차이를 보고하였다.

이상과 같이 Ag-NORs에 대한 실험은 염색방법이 간편할 뿐 아니라 여러가지 질환에서 감별진단에 도움을 주는 것으로 사료되어 저자는 장기별로 정상조직과 여러가지 증식성 병변, 양성종양, 경계성 병변 및 종양등에서 Ag-NORs 염색을 시행하여 이의 임상적 적용을 모색하고자 하였다.

본 실험의 결과에 따르면 정상조직과 증식성 병변간과 증식성 병변과 양성종양간, 또 암종과 육종간에 평균값의 차이가 통계학적으로 의미가 없었다. 그러나 양

성 종양과 암종의 평균값 사이에는 통계학적인 차이를 보였으며 ( $p < 0.0005$ ) 정상조직과 증식성 병변, 양성종양 및 경계성 병변을 포함한 비악성 병변의 전체 평균과 암종과 육종을 합한 평균을 비교하였을 때 Ag-NORs의 차이가 통계학적으로 의미있는 것으로 나타났다 ( $p < 0.0005$ ).

각 장기별로 임상양상에 따른 세포당 평균 Ag-NORs 수를 살펴보면 위장관의 정상점막에서 표면 원주상피가 1.84, 기저부가 2.71로서 증식성이 낮은 표면부보다 기저부가 높게 나타났고 선암의 경우는 최저 1.93에서 최고 5.00까지 그 수치가 다양하였으나 대체로 2 이상의 비교적 많은 Ag-NORs 수를 보였다. 분화도에 따른 Ag-NORs 숫자는 차이를 보이지 않았다. 전립선의 경우도 증식증을 보인 선에서는 1.66인 반면 전립선암이 되면 2.10 이상으로 증가하였고 전립선암의 분화도에 따른 Ag-NORs 수의 차이는 관찰되지 않았다. 후두에서는 정상 편평상피세포 2.66, 편평상피유두종에서 2.06, 도립성 유두종에서 2.28등으로 정상과 양성종양에서 모두 2 이상의 많은 숫자를 보였으며 후두의 편평상피 세포암의 경우 1.63 내지 3.24로서 이들과 큰 차이를 보이지 않았는데 이는 정상적으로 기저부에서 증식성이 높는데 증식성이 낮은 표면부와 구분하지 않고 임의로 숫자를 세었기 때문인 것으로 풀이된다. 자궁경부의 편평상피에서는 정상 세포에서 1.73이고 화생에서 1.33 및 1.49로서 정상과 비슷하였으며 중등도 이형성인 2예의 경우도 1.27 및 1.35로 정상 및 화생과 비슷하였다. 그러나 상피내 암종 및 침입성 암종에서는 모두 2.35 이상의 많은 Ag-NORs가 관찰되어 자궁경부에 생기는 상피 질환들의 감별에 Ag-NORs 염색이 도움을 줄 수 있는 것으로 생각된다. Rowlands<sup>34)</sup>는 이형성을 1도, 2도 및 3도로 등급을 나누어 연구한 결과 정상 및 1도와 2도의 이형성에서는 Ag-NORs의 수가 비슷한 것으로 나타났고 3도 이형성의 경우만 의미있게 많은 Ag-NORs 수를 보였다고 하였다. 난소의 경우는 양성 낭포 선종에서 1.01 및 1.04로서 경계성 병변에서의 1.82 및 1.68에 비해 낮았는데 이는 자궁경부의 화생과 이형성이 비슷한 수치를 보인 것과 대조적이라 하겠다. 또 악성 낭포 선암에서는 최저 2.56으로서 경계성 병변에 비해 높은 수치를 보여 주었으므로 이 두 질환의 감별이 어려운 경우 Ag-NORs 염색을 시행함으로써 감별진단을 할 수 있을 것으로 생각된다. 자궁내막의 경우를 보면 세포증식성과 Ag-NORs이 비

례하는 경향을 보여주어 증식기 자궁내막에서 1.72로 분비기의 1.46보다 높았으며 선암이 되면 2.54 이상의 많은 Ag-NORs가 관찰되었고 자궁내막 증식증에서는 1.63 및 1.77로서 증식기 자궁내막과 비슷한 수치를 나타낸 것이 주목할 만 하였다. 정상 고환의 생식세포에서 2.29의 많은 Ag-NORs가 관찰된 것 역시 세포의 증식성이 높은 정조세포에서 많은 Ag-NORs를 가지고 있기 때문이며 실제로 현미경 관찰에서 정세포의 중심쪽으로 갈수록 세포가 성숙됨에 따라 Ag-NORs의 숫자도 적어지는 것을 알 수 있었다. 고환에 생긴 정상피종에서는 3.28의 많은 Ag-NORs가 관찰되었다. 유방의 정상조직 및 여러가지 병변에 대한 Ag-NORs 염색의 결과를 보면 정상 유관의 선세포는 세포당 평균 NOR 수가 1.38이었고 유방 이형성증 1.67, 섬유선종 1.79, 관상선종 2.27, 침윤성 관암 2.46 내지 6.60으로서 정상 세포가 가장 낮고 유방이형성증과 섬유선종이 비슷하며 침윤성 관암에서 가장 높은 숫자를 보였다는 점에서 Smith 및 Crocker가 발표한 결과와 상응하며<sup>10)</sup> 본 실험에서는 관상선종이 2.27로서 섬유선종에 비해 높게 나타났는데 Smith 및 Crocker는 관상선종을 실험대상에 포함시키지 않아서 비교해 볼 수 없었다. 방광염이 동반되어 있지만 점막에 이형성이 없었던 방광조직의 이행상피 세포에서 Ag-NORs 수는 2.28로서 다른 불안정성 세포에 비해 다소 높았는데 그 원인을 규명할 수는 없으나 염증으로 인하여 세포의 교체속도가 증가하였기 때문일 것으로 추측해 볼 수 있으며 방광염이 없는 정상 이행상피에서의 연구가 앞으로 더 필요하리라고 생각된다. 이행상피 세포암에서는 최저 2.07에서 최고 3.35까지 비교적 많은 수의 세포당 평균 Ag-NORs가 관찰되었으며 Ash grade와 Ag-NORs의 숫자간에 상관관계는 관찰되지 않았다. 간 조직의 경우 정상 간세포에서 1.46, 간경변에서 1.72, 간세포암에서 3.64로 나타났다. Crocker 등<sup>35)</sup>도 이와 유사한 결과를 보고하였는데 정상 간세포의 Ag-NORs가 가장 적고 간세포암에서 가장 많다고 하였다. 따라서 이러한 결과는 Ag-NORs가 간 병변을 감별 진단하는데 도움을 줄뿐만 아니라 간경변에서 이형성을 거쳐 간세포암이 발생할 수 있는 가능성을 제시해 주는 소견이라 하겠다. 또 피부의 모반 세포에서 세포당 Ag-NORs 수는 1.02인 반면 악성 흑색종에서는 2.38이라는 월등히 높은 수치를 나타낸 것도 세포의 증식성과 Ag-NORs 숫자가 비례하여 나타난 한 예가 될 것이며 이

는 1987년 Crocker 등의 연구에서도 관찰된 바 있다<sup>9)</sup>. 골격근 세포 및 그로부터 발생한 양성 및 악성 종양에서도 이러한 상관관계가 관찰되는데 즉, 정상 골격근 세포에서는 0.94, 골격근종은 1.67, 골격근 육종 2예에서는 3.24 및 3.69개의 세포당 평균 Ag-NORs 수를 보였다. 평활근의 경우도 비슷하여 정상 평활근 세포에서는 0.45로 낮았고, 평활근종에서 1.14, 평활근 육종에서 1.83 및 2.45로 비교적 많은 Ag-NORs 수를 보였으며 연골육종에서도 2.99로 진성연골종의 1.35에 비해 많은 Ag-NORs을 보였다. 또한 섬유세포의 증식증 경우를 보면 섬유종증이 1.74였고 악성 섬유성 조직구종은 1.97과 2.53이었는데 그중 1.97을 보인것은 점액성의 악성 섬유성 조직구종으로서 비교적 세포의 밀도가 낮고 분화가 좋은 것임을 감안할 때 다른 악성종양에 비해 낮은 수치를 보인점을 이해할 수 있다. 신경섬유에서 유래한 종양의 경우를 보면 신경초종에서 1.69 및 2.19를 보였고, 재발성 Bednar 종양에서 2.38, 악성 신경초종에서 1.79를 보인점으로 미루어 양성 종양에서도 재발된 경우 많은 Ag-NORs을 가질수 있다는 사실을 암시할 수 있었지만 숫자 이외에 Ag-NORs의 모양이라든지 분포양상에 대한 차이점을 찾아 보아야 할 것이다. 뇌조직에서는 정상 신경교 세포의 세포당 평균 Ag-NORs이 1.16이었고 성상교세포종중 1도에서 1.58 및 1.98로서 2 이하의 비교적 낮은 Ag-NORs을 보여 대개 다른 양성 종양과 비슷한 수치였고 2도 및 3도에서는 2.80, 3.26 및 2.26등으로 Ag-NORs 2.53인 다형성교아세포종 및 다른 악성 종양과 비슷하였다. 림프종의 경우 Crocker 등의 연구와 일치하는 것이었는데 즉 악성도가 낮은 small lymphocytic lymphoma에서 1.17이고 중등도인 diffuse small cleaved 형에서 1.44 및 1.47, 악성도가 높은 lymphoblastic lymphoma 와 immunoblastic lymphoma에서 3.82 및 2.28등으로 악성도가 높을수록 Ag-NORs 수가 높게 나타났다. 그러나 본 연구에서 악성도가 중등도인 diffuse large cell noncleaved 형의 경우 5.07로서 림프종중에서 가장 높게 나타났는데 이는 diffuse large cell noncleaved lymphoma 가 여포의 centroblast에서 유래하는 종양임을 고려할 때 타당성 있는 결과라 하겠다.

이상과 같이 여러 장기의 악성 종양은 대부분 세포당 평균 Ag-NORs 수가 2 이상임을 알 수 있었는데 (Table 5, 6) 예외적으로 갑상선의 유두종, 위장관의 점

액암, 폐장의 점액성 기관지 폐포암과 선양낭포암등은 2 이하를 보였다. 이에 대한 이유로 임상적으로 갑상선 유두종은 다른 악성 종양에 비하여 매우 예후가 좋으며 선양낭포암 역시 비교적 서서히 자라는 종양이라는 점으로 설명할 수 있고 이로 미루어보아 점소를 생산하는 종양도 비록 그 임상적 시기에 따라 예후가 다르겠으나 같은 시기라면 다른 선암에 비해 예후가 좋을 것으로 기대된다.

이상의 실험성적으로서 Ag-NORs 염색을 시행함으로써 다음과 같은 점에서 유용성을 찾을 수 있었는데 첫째 악성 종양과 그의 비악성 질환과의 감별진단에 유용하며 둘째 임상적으로나 통상적인 광학 현미경 검색에서 악성 종양으로 진단된 경우에 Ag-NORs 숫자가 낮다면 세포의 증식성 역시 낮을 것으로 사료되어 예후가 좋을 것으로 추측할 수 있다. 그러나 이에 대한 확인을 위해서는 앞으로 좀 더 많은 연구 및 임상적 추적 관찰이 뒷받침되어야 할 것이다.

## 결 론

1987년 1월부터 1988년 7월 사이에 절제되었던 정상 조직 15예와 각종 증식성 병변 12예, 양성종양 30예, 경계성 병변 4예, 악성종양 83예에서 nucleolar organizer region에 대한 은기호성 염색(Ag-NORs)을 시행하여 그 임상적 응용을 모색한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 정상조직 중 불안정성 세포에서는 안정성 세포에서보다 높은 Ag-NORs 숫자를 보였고 특히 고환의 생식세포, 위장관 점막의 기저부세포, 편도선과 림프절의 여포세포에서는 2 이상의 Ag-NORs이 관찰되었다.
2. 여러 장기에서의 증식성 병변, 양성종양 및 경계성 병변에서의 Ag-NORs 수는 정상조직 특히 불안정성 세포에서와 비슷하였다.
3. 암종 및 육종에서의 Ag-NORs은 대부분 2 이상으로 정상조직이나 비악성 병변들에 비해 의의있게 높은 숫자를 보였는데 암종중에서 갑상선 유두종, 점액성 선암, 점액성 기관지 폐포암, 폐의 선양낭포암 모든 예에서, 그리고 육종에서는 평활근육종, 악성 섬유성 조직구종, 악성신경초종중 일부에서 비교적 낮은 Ag-NORs 수를 보였다. 암의 악성도와 Ag-NORs 숫자의 상관관계는 없었다.

4. 림프종에서는 림프종의 등급에 따라 다양한 Ag-NORs 수를 보였으며 악성도가 높을수록 Ag-NORs 숫자가 증가하였다.

이상과 같은 결과로부터 Ag-NORs 염색은 악성종양과 비악성병변과의 감별에 도움을 줄 수 있다는 사실을 알 수 있었으나 통상적인 진단기준에 의해 악성 종양으로 진단된 경우라도 Ag-NORs 숫자가 낮다면 환자의 예후에 연관이 있을지에 관한 사실은 다른 임상적 추적 연구의 뒷받침이 있어야 할 것이다.

### 참 고 문 헌

- 1) Wright NA: Cell proliferation in health and disease. In Anthony PP, MacSween RNM ed. *Recent Advances in Histopathology. Vol 12* Edinburgh: Churchill Livingstone, 1984, p17
- 2) Graem N, Helweg-Larsen K: Mitotic activity and delay in fixation of tumour tissue. *Acta Pathol Microbiol Scand A* 87:375, 1979
- 3) George K, Harry WC: Autoradiographic study of human nervous system tumors. *Arch Pathol* 80:38, 1965
- 4) Barlogie B, Raber MN, Schumann J, Johnson TS, Drewinko B, Swartzendruber DE, Cohde W, Andreeff M, Freireich EJ: Flow cytometry in clinical cancer research. *Cancer Res* 43:3982, 1983
- 5) Nagashima T, DeArmond JJ, Murovic J, Hoshino T: Immunocytochemical demonstration of S-phase cells by antibromodeoxyuridine monoclonal antibody in human brain tumor tissues. *Acta Neuropathol (Berl)* 67:155, 1985
- 6) Gerdes J, Schwab J, Lemke H, Stein H: Production of a monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 31:13, 1983
- 7) Hall PA, Crocker J, Watts A, Stansfeld AG: A comparison of nucleolar organizer region staining and Ki 67 immunostaining in non-Hodgkin's lymphoma. *Histopathology* 12:373, 1988
- 8) Crocker J, Nar P: Nucleolar organizer regions in lymphomas. *J Pathol* 151:111, 1987
- 9) Crocker J, Skilbeck N: Nucleolar organizer regions in melanotic lesions of the skin. A quantitative study. *J Clin Pathol* 40:885, 1987
- 10) Smith R, Crocker J: Evaluation of nucleolar organizer region associated proteins in breast malignancy. *Histopathology* 12:113, 1988
- 11) Egan MJ, Raafat F, Crocker J, Smith K: Nucleolar organizer regions in fibrous proliferations of childhood and infantile fibrosarcoma. *J Clin Pathol* 41:31, 1988
- 12) Crocker J, Ayres J, McGovern J: Nucleolar organizer regions in small cell carcinoma of the bronchus. *Thorax* 42:972, 1987
- 13) Lewin B: *Gene, Expression, 2. Eukaryotic chromosomes. 2nd ed.* New York, John Wiley, 1980, p875
- 14) Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD: *Molecular biology of the cell.* New York, Garland publishing Inc., 1983, p424
- 15) Perry RP: Processing of RNA. *A Rev Biochem* 45:605, 1976
- 16) Insun Kim, Seung Hye Park, Seung Yong Paik: Nucleolar organizer regions in lymphomas in Korea. *JKMS* 3:99, 1988
- 17) Williams MA, Kleinschmidt JA, Krohne G, Francker WW: Argyrophilic nuclear and nucleolar proteins of xenopus laevis oocytes identified by gel electrophoresis. *Exp Cell Res* 137:341, 1982
- 18) Busch H: Nucleolar proteins: Purification, isolation and functional analyses. In Hnilica LLS ed. *Chromosomal Non Histone Proteins. Vol. IV* Boca Raton Florida. Chemical Rubber Company Press, 1984, p233
- 19) Ochs RL, Busch H: Further evidence that phosphoprotein C23 (110 KD/pH 5.1) is in nucleolar silver staining protein. *Exp Cell Res* 152:260, 1984
- 20) Escande MD, Gas N, Stevens B: Immunolocalization of the 100 K nucleolar protein in CHO cells. *Biol Cell* 53:99, 1985
- 21) Gas N, Escande ML, Stevens B: Immunolocalization of the 100 KDa nucleolar protein during the mitotic cycle in CHO cells. *Biol Cell* 53:209, 1985
- 22) Courvalin JC, Maunoury R, Hernandez-Verdun D, Maron B, Bornens M: Une protein de 80 KD est associee a l'organisateur nucleolaire (NOR) des cellules humaines. *Biol Cell* 49:10a, 1983
- 23) Howel WM, Denton TE, Diamond JR: Differential staining of the satellite regions of acrocentric chromosomes. *Experientia* 31:206, 1975
- 24) Goodpastre C, Bloom SE: Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma* 53:37, 1975
- 25) Owel WM, Black DA: Controlled silver staining of

*nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a one step method. Experimentia 36: 1014, 1980*

- 26) **Ploton D, Bobichon H, Adnet JJ:** Ultrastructural localization of NOR in nucleoli of human breast cancer tissues using a one-step Ag-NORs staining method. *Biol Cell 43:229, 1982*
- 27) **Ploton D, Menager M, Adnet JJ:** Simultaneous high resolution localization of Ag-NORs proteins and nucleoproteins in interphasic and mitotic nuclei. *Histochem J 16:897, 1984*
- 28) **Kacerovska H, Likovsky Z, Smetana K:** Nucleolar silver stained granule in rat Yoshida sarcoma cells after RNA synthesis inhibition. *Neoplasma 28:513, 1981*
- 29) **Busch H, Lischwe MA, Michalik J, Chan PK, Busch RK:** Nucleolar proteins of special interest: silver staining proteins B23 and C23 and antigen of human tumor nucleoli. In *Joran EG, Cullis CA ed. The nucleolus. Cambridge, Cambridge University Press, 1982, p43*
- 30) **Ploton D, Menager M, Jeannesson P, Himer G, Pigeon F, Adnet JJ:** Improvement in the nucleolar organizer region at the optical level. *Histochem J 18: 5, 1986*
- 31) **Egan MJ, Raafat F, Crocker J, Smith K:** Nucleolar organizer regions in small cell tumors of childhood. *J Pathol 153:275, 1987*
- 32) **Egan MJ, Crocker J:** Nucleolar organizer regions in cutaneous tumors. *J Pathol 154:247, 1988*
- 33) **Crocker J, McGovern J:** Nucleolar organizer regions in normal, cirrhotic, and carcinomatous livers. *J Clin Pathol 41:1044, 1988*
- 34) **Rowlands DC:** Nucleolar organizer regions in cervical intraepithelial neoplasia. *J Clin Pathol 41: 1200, 1988*

— Abstract —

### **Nucleolar Organizer Regions in Normal Tissue and Hyperplastic and Neoplastic Lesions**

**Joon Mee Kim, M.D., In Sun Kim, M.D.  
and Seung Yong Paik, M.D.**

*Department of Pathology, Korea University Hospital*

For the identification of proliferating cells in tissue,

the argyrophilic method for the demonstration of nucleolar organizer regions (Ag-NORs) have been described. To evaluate the applicability of Ag-NORs in surgical pathology, the authors have done Ag-NORs staining on 144 cases of routinely processed, formalin-fixed paraffin sections of various tissues; 15 normal tissues, 12 reactive and hyperplastic lesions, 30 benign neoplasms, 4 borderline lesions, and 83 malignant tumors. The results were summarized as follows:

1) In normal tissues, the mean numbers of Ag-NORs were higher in labile cells, especially in actively proliferating cells such as germ cells of testis, crypt epithelial cells in gastrointestinal mucosa, and lymphocytes from germinal center of tonsil and lymph node, than those of stable cells.

2) The mean numbers of Ag-NORs in reactive and hyperplastic lesions, benign neoplasms, and borderline lesions were similar to those of normal labile cells.

3) The mean numbers of Ag-NORs in carcinomas and sarcomas, (usually more than 2) significantly exceeded those of normal and non-malignant conditions. However, certain cases of carcinomas such as papillary carcinomas of thyroid, mucinous carcinoma of stomach, bronchioloalveolar carcinoma of lung, and adenoid cystic carcinoma of lung, and some of the leiomyosarcoma, malignant fibrous histiocytoma, and malignant schwannoma showed relatively lower numbers of Ag-NORs.

4) In non-Hodgkin's lymphomas, the high grade lymphomas showed more Ag-NORs than the low grade ones.

From above results, it is suggested that the Ag-NORs technique is helpful in differentiation between malignant and non-malignant lesions. However, further evaluation on the significance of Ag-NORs upon the behavior of the cancer is to be made.

**Key Words:** Ag-NORs, Nucleolar organizer regions, Argyrophilic staining, Proliferation activity