

편평세포암에서의 태반형 Glutathione S-Transferase 출현도에 관한 면역조직화학적 관찰

중앙대학교 및 서울대학교* 의과대학 병리학교실

김미경 · 서진석* · 송계용 · 장자준**

서울대학교 의과대학 생화학교실

박 상 철

서 론

Glutathione S-Transferase(이하 GST)는 면역학적으로 서로 다른 5개의 subunit로 구성되어 있으며 많은 hydrophobic electrophilic xenobiotics를 glutathione(이하 GSH)과 결합할 수 있도록 하여 생체내에 독성물질로부터 조직을 보호하는 것으로 알려져 있다¹⁾. 특히 mercapturic acid형성의 첫번째 단계에 작용하는 것으로 알려져 있으며^{2,3)} bilirubin이나 steroid 대사산물의 세포내 운반에도 관여한다고 알려져 있다^{4,5)}.

간암의 발생과정에서도 Hesse와 Orrenius등⁶⁾에 의하면 GSH와 GST는 Benzopyrene의 대사산물이 핵의 DNA에 결합하는 것을 막아주는 역할도 한다고 보고한 바 있다. 이들중 태반형 GST(이하GST-P)는 특히 흰쥐에서 간암의 전단계 증식성 결절을 구성하는 세포에서 현저히 증가되어 간암의 표지 물질로서 각광을 받고 있다^{7,8)}.

GST-P는 임신 15일째의 흰쥐태반의 cytosol에서 추출 분리 되었으며⁹⁾ 또한 이 GST-P는 인체에서는 태반에서 추출된 GST-Pi와 면역학적으로 동일한 물질로 알려져 있다⁹⁾.

최근 Mikata¹⁰⁾에 의하면 GST-P가 음성흰쥐에서의 간암 전단계 결절에서는 75%이상에서 양성반응을 나타냈으나 자성흰쥐에서는 반대로 80%이상에서 음성반응을 나타내어 GST-P가 성과 관련이 있음을 보고한바도

있으나 아직도 일관성 있는 전암 단계의 표지물질로 인정받고 있다¹⁰⁾. GST의 인체내 분포는 주로 간과 태반과 피부에 존재하고 있음이 최근 알려져 있고 특히 피부에는 GST-Pi형이 다량 존재함이 밝혀지고 있다¹¹⁾. 또한 Shiratori 등¹²⁾은 자궁 경부의 편평세포암에서 GST-Pi의 출현도를 검색하여 암세포에서 증가됨을 보고한바 있다.

그러므로 본 연구에서는 인체내 여러 장기의 편평세포암을 GST-Pi에 대한 그 분포와 출현도를 관찰하기 위하여 다음과 같은 면역조직학적 염색과 검색을 실시하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

연구대상은 원자력병원 병리과와 중앙대학교 의과대학 병리학교실에서 진단된 여러 장기에서 발생한 편평세포암종 23례 즉 자궁경부암 14례, 식도암 3례, 폐암 3례, 후두암 3례를 대상으로 하였다(Table 1). 또 이들 조직중 정상 조직과 이형성조직을 동시에 관찰할 수 있는 것은 상호 비교 관찰하였다.

2. 방 법

파라핀포매된 조직을 5~6 μ 정도의 두께로 박절한 후 크실렌에 처리하여 파라핀을 제거하고 100%, 95%, 75%알코올에 각각 1분씩 2회에 걸쳐 탈수시킨다. 증류수로 세척한 후 phosphate buffered saline(이하 PBS로 약함, 0.01M pH 7.2)에 5분씩 3회 처리하였다. 내재성 과산화수소의 활성을 제거하기 위하여 0.5% H₂

** 원자력병원 병리과

본 논문은 대한병리학회 제 41차 추계학술대회에서 포스터로 전시되었음.

Table 1. Histological classification and immunohistochemical staining of GST-Pi in squamous cell carcinoma

Classification	No. of cases
Uterus, squamous cell carcinoma	14
nonkeratinizing	12
keratinizing	2
Esophagus, squamous cell carcinoma	3
nonkeratinizing	2
keratinizing	1
Lung, squamous cell carcinoma	3
nonkeratinizing	2
keratinizing	1
Larynx, squamous cell carcinoma	3
nonkeratinizing	1
keratinizing	2
Total	23

O₂ methanol 혼합액으로 10분간 처리한후 PBS로 5분씩 3회 세척하였다. 그후 정상 돼지혈청(1:20, Dako 사 Denmark)으로 20분간 처리하고 과잉된 정상혈청을 제거한 후 토끼에서 만든 항인체 태반형 glutathione S-transferase (GST-Pi, 서울대 의과대학 생화학교실 박상철 교수 제공) 항체(1:300)를 조직 절편에 가하여 15시간 반응시킨후 PBS로 5분간 3회 세척한다. 그 다음 돼지에서 만든 항토끼 IgG 항체(1:400, Dako사)를 조직절편에 가해 60분간 반응시키고 PBS로 5분간 3회 세척한다. 그다음 PAP 복합제(1:400, Dako사)를 조직 절편에 가하여 60분간 반응시킨다. 다시 PBS로 5분간 3회 세척한후 3.3 diaminobenzidine tetrachloride (Sigma사)를 0.1M Tris완충액(pH7.6)에 녹인후 1% H₂O₂를 가하여 기질용액을 만들어 조직절편에 가하고 갈색반응이 나타나기 시작하면 증류수로 세척하고 Harris Hematoxylin으로 대조염색하여 탈수과정을 거쳐 Canada balsam으로 봉입한후 광학현미경으로 관찰하였다.

3. 성적평가 방법

GST-Pi에 대한 양성도의 평가는 광학현미경 소견상 갈색의 색소 침착이 나타나면 양성으로 하고 상대적인

Table 2. Immunohistochemical staining of GST-Pi in normal, dysplasia, and neoplasia of uterine cervix

Uterine cervix	Basal layer	Superficial layer
Normal squamous epithelium	—	+
endocervical epithelium	—	—
reserve cell	+	+
Dysplastic cell	— ~ +	+ ~ ++
Tumor cell nests	Center	Periphery
Invasive carcinoma		
large nonkeratinizing cell	+ ~ ++	++ ~ +++
keratinizing cell	— ~ +	+++
Undifferentiated cell	— ~ +	— ~ +

* — : Negative, + : Weak Positive, ++ : Moderate Positive, +++ : Strong Positive

반응정도에 따라 — : 음성반응, + : 경도, ++ : 중등도, +++ : 고도의 양성반응으로 표시하였다.

관찰 성적

1. 자궁경부암에서의 태반형 GST-Pi의 출현도 (Table 2)

자궁경부암은 총 14례중 각질진주를 전반적으로 형성하는 예는 2례였고 12례는 부분적인 각화를 하거나 거의 없는 편평세포암이었다. 비각화 형에서는 전체적인 양성도는 경도내지 중등도의 양성반응을 나타냈고 대체로 세포소(nest)의 중앙부로 갈수록 양성반응이 강하게 나타났으며 주변부는 거의 음성이거나 미약한 반응을 나타내었다. 각화형에서는 각질진주를 형성하는 세포는 강한 양성반응을 나타냈으나 중심에 있는 각질은 음성반응을 나타내었고 반면에 주변부의 세포들은 음성이거나 미약 하였다. 즉, 비각화(nonkeratinizing large cell) 형에서는 침윤된 세포소의 세포들이 거의 모두 양성을 보였으나(Fig. 1) 각화형에서는 각질진주를 형성하는 세포에 인접 각질세포(keratinocyte)에서만 강한 양성반응을 나타내었다(Fig. 2).

정상적인 자궁경부의 편평세포에서는 GST-Pi의 양성도가 기저부에서는 음성이거나 표층으로 갈수록 경도로 양

Table 3. Immunohistochemical staining of GST-Pi in normal, dysplasia, and neplasia of esophagus

Esophagus	Basal layer	Superficial layer
Normal squamous epithelium	-	+ ~ ++
Dysplastic cell	- ~ +	+ ~ ++
Tumor cell nests	Center	Periphery
Invasive carcinoma		
large nonkeratinizing cell	+ ~ ++	+ ~ +++
keratinizing cell	++	++
Undifferentiated cell	- ~ +	- ~ +

* - : Negative, + : Weak Positive, ++ : Moderate Positive, +++ : Strong Positive

성도가 증가되었다. 화생성세포와 reserve cell에서도 정도의 양성도가 관찰되었다. 이형성세포도 기저부의 미분화세포는 반응이 미약하였고 표층의 세포들은 정도 내지 중등도의 양성도를 나타내었다. 그러나 잘 분화된 큰 세포는 강한 양성도를 나타내었다.

2. 식도암에서 태반형 GST-Pi의 출현도 (Table 3)

정상 편평세포 점막은 기저층은 음성이었고 표층으로 갈수록 GST-Pi출현이 증가되었다. 이형성 세포중 미분화 세포는 음성이거나 미약하였고 표층은 정도내지 중등도로 증가되었다. 식도암은 3례중 2례는 비각화형이었고 1례는 부분적인 각화를 하는 편평세포암 이었다.

비각화형에서는 전체적으로 정도내지 중등도의 양성 반응을 보였으며 (Fig. 3) 세포소 (nest)의 중심부에서는 양성반응을 나타내고 주변부의 종양에서는 음성내지 미약한 반응을 나타내었다.

각화형 세포는 중등도 내지는 강한 양성반응을 나타냈다. 종양의 양성도는 정상점막의 양성도와 거의 유사하거나 약간 증가되었다.

3. 후두암에서의 태반형 GST-Pi의 출현도 (Table 4)

후두 편평세포암 2례에서 각화 경향이 뚜렷하였다. 정상적인 점막의 원주상피와 편평세포는 정도의 양성반응을 나타냈으나 각화성 편평세포암 상피는 강한 양성반응을 종양세포의 중심부는 강한 양성반응을 종양세포의 중

Table 4. Immunohistochemical staining of GST-Pi in normal, dysplasia, and neoplasia of larynx and lung

Larynx and lung	Basal layer	Superficial layer
Columnar, ciliated epithelium	+	+ ~ ++
Squamous metaplasia	- ~ +	++ ~ +++
Tumor cell nests	Center	Periphery
Invasive carcinoma		
large nonkeratinizing cell	+	+ ~ ++
keratinizing cell	++	++ ~ +++
Undifferentiated cell	- ~ +	- ~ +

* - : Negative, + : Weak Positive, ++ : Moderate

심부는 강한 양성반응을 나타내었고 (Fig. 4), 기저부는 미약한 반응을 보였다.

4. 폐암에서의 태반형 GST-Pi의 출현도 (Table 4)

정상적인 원주상피는 정도의 양성반응을 나타내고 화생성 상피도 정도의 양성반응을 보였으며 이형성세포에서는 기저부의 미분화세포에서 음성 내지는 미약하게 반응하였고, 표층은 반응도가 증가되었다. 편평세포암의 큰 종양세포에서는 중등도의 양성반응을 보였고, 종양 세포 중심부는 정도내지 중등도의 반응을, 기저부는 미약 내지는 음성이었다.

고 찰

총괄적으로 본 연구에서는 GST-Pi는 인체의 여러 다른 장기에서 발생하는 편평세포암에서도 거의 동일한 면역학적인 표현 및 출현도를 관찰할 수 있었다. GST-Pi는 인체 피부의 편평세포와 식도, 자궁경부, 후두부의 편평세포에서도 양성반응을 나타내고 있었으며 암종으로 변형된 후에도 GST-Pi의 양적 증가를 관찰할 수 있었다.

GST-Pi는 처음 간의 전암단계 표지물질로 알려져 왔고^{8,15-19} 저자들도 실험적으로 확인한바 있으나¹³ 흰쥐에서는 GST-Pi가 정상적으로 간에 존재하고 있지 않다가 암병소로 변형되는 과정에서 GST-Pi의 출현이 현저

하여 전암병소의 표지물질로 가장 좋은 것으로 알려져 있다. 그러나 인체의 간에서는 아직 확실히 확인되고 있는 못하여 연구중에 있다¹³⁾.

그러나 피부의 편평세포에서는 GST-Pi가 정상적으로도 다량 존재함으로 흰쥐 간암에서의 GST-Pi역할과 같이 전암성 병변에만 나타나는 것과 같이 특이하지는 않으나 정상세포의 양보다는 편평세포암 세포에서 증가 또는 감소되는 경향을 갖고 있어 종양세포에서의 대사 또는 독성의 중화작용에 GST-Pi에 의한 편평세포내 정상 대사과정의 변형이 온 것을 의미 한다고 생각된다¹¹⁾. 또 본 관찰에서와 같이 GST-Pi는 점액분비세포에는 존재하지 않았으나 섬모세포는 정도의 양성반응을 보였다. 따라서 앞으로 추시해보아야 겠으나 점액을 분비하는 점액세포에서 기원된 선암종에서는 그 함량이 감소 내지는 거의 없으리라 생각된다.

그러나 위암, 대장암등에서는 GST-Pi가 양성반응인 것으로 보고 되고 있어 앞으로 좀 더 확인해 보아야 하리라 생각된다. Shiratori등¹²⁾은 인체 자궁경부 이형증 및 편평세포암에서 GST-Pi의 변화를 면역조직화학적으로 관찰 분석한 결과 정상 편평 세포는 음성이었으나 이형증의 정도에 따라 경도 이형증에서는 약한 반응을, 심한 이형증에서는 강한 양성반응을 나타내었고 침윤성 암인 경우에는 90%이상에서 암세포에 GST-Pi가 강한 양성반응을 나타냈고 70%이상에서는 핵에서도 반응을 나타내었다고 보고하고 있다. 동시에 GST-Pi의 활성도도 양성 증가보다는 낮으나 정상보다는 현저히 증가됨을 관찰 보고 하고 있다.

그러나 GST-Pi가 간암의 전암단계뿐만 아니라 자궁경부의 편평세포암의 진단에 세포의 표지물질로서의 기능도 하리라고 주장하고 있다¹²⁾.

본 관찰에서는 정상인 경우에는 점막의 기저세포는 음성이었고 표층으로 올라갈수록 양성이었으며 이형증 세포중 기저층의 미분화 세포는 음성이거나 미약한 양성반응을 보였고 표층의 분화된 이형세포들은 양성반응을 나타내었으며 암세포로 완전히 분화된 세포는 각질진주 형성에 관계없이 GST-Pi에 비교적 강한 반응을 나타내었다. 그러므로 관찰이 주관적이라는 점, 그리고 면역조직화학적 방법과 수기의 차이점이 어느정도 원인이 될 수 있으리라 추측되나 본 연구에서의 관찰과 Shiratori 등¹²⁾의 관찰이 다소 상이하다고 할 수 있다. 특히 이형증에서 상이한 소견을 나타냈고 정상적으로 자궁경부암

에서는 암종의 GST-Pi의 양이 정상상피 함유량보다 증가하는 경향을 나타냈으나 식도암과 폐암에서는 오히려 감소하거나 거의 유사한 반응을 나타냈으며 분화도가 좋은 암종이 주로 발생하는 후두부는 정상상피보다 현저히 증가됨을 알 수 있었고 일률적으로 암세포가 되면 GST-Pi의 양이 정상상피 함유량보다 증가된다고 말할 수도 없는것 같다.

일반적으로 편평세포암의 표지물질은 고분자량의 keratin 단백질이 가장 중요하고 carcinoembryonic antigen(CEA)이 현재까지 많은 연구가 되어 왔으며 혈중 CEA의 농도를 측정하여 자궁경부 편평세포암의 수술후 재발 및 전이유무와 치료방침을 전하는데 임상적으로 사용되고 있음을 주지의 사실이다¹⁴⁾.

본 연구에서의 결과들 토대로 GST-Pi도 자궁경부, 식도, 폐, 후두 등에서 발생하는 편평세포암의 표지물질로도 타월하게 사용될 수 있음을 시사하고 있다.

또 GST-Pi의 작용이 각종 약물의 독성을 중화시키는 역할을 하는 효소임으로 편평세포암에서 GST-Pi가 풍부하게 존재한다는 사실이 이 종양이 화학요법에 어느 정도 저항할 가능성도 내포하고 있음을 시사하는 소견이라 사료된다. 그러나 아직 이러한 암과 전암단계에서의 GST-Pi의 역할은 분명하지 않다. 또 GST-Pi에 염색되는 세포가 keratin이나 CEA에 염색이 잘되는 세포와 일치한다고 생각되며 이점이 매우 흥미롭다. 또한 미분화 세포에서 편평세포로 분화가 잘되면 그 세포는 강력한 독성 해소 기능을 갖고 있음을 본 관찰을 통해 알 수 있었으며 이러한 점은 GST-Pi의 분포 부위의 대부분이 외부와 접촉하고 있는 신체부위라는 점에서 일치되는 소견이라 하겠다.

Sato¹⁵⁾에 의하면 GST-pi는 간과 태반에 소량 분포하고 신장의 근위극 세뇨관, 폐의 섬모상피, 췌장의 관상피와 뇌의 성상세포에 많이 분포하고 있으며 또 소장외 원주상피, 피부의 편평세포 그리고 난소의 원시여포(primary follicle)등 거의 모든 장기에 분포하고 있다고 보고하고 있어 다른 장기 및 다른 유형의 암종에서의 GST-Pi에 대한 연구가 계속 되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

인체 편평세포암 23례중 자궁경부암 14례, 식도암 3

레, 폐암3레, 후두암 3레를 대상으로 태반형 glutathione S-transferase에 대한 면역조직화학적 염색을 실시하고 검색한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 정상편평세포 점막의 기저세포는 GST-Pi염색이 음성이었으나 상부로 분화될수록 경도내지 중등도의 반응을 나타내었다. 이형증에서는 기저부 미분화 세포는 음성내지 약양성반응 이었으나 상부층의 분화된 이형성 세포들은 경도내지 중등도의 양성반응을 나타내었다. 편평세포암에서는 크고 분화가 잘된 세포일수록 중등도 내지 강한 양성반응을 나타냈고 각질진주변의 종양세포는 강한 양성반응을 나타낸 반면 주변세포는 음성내지 경도의 양성 반응을 나타내었다.

2) 인체의 편평세포암은 발생부위와 상관없이 GST-Pi의 염색상은 유사한 반응을 나타내었다.

3) 그러므로 인체의 편평세포암에서 태반형 glutathione S-transferase는 분화된 암세포에서 경도내지 중등도의 양성반응을 나타내고 분화가 좋을수록 GST-Pi의 양도 증가됨을 알 수 있었고 또한 편평세포암에서의 해독작용 기전에 GST-Pi가 중요한 역할을 하리라고 생각되었다.

참 고 문 헌

- 1) Singh SV, Dao DD, Patridge CA Theodore C, Srivastava SK, Awasthi YC: *Differential form of human liver glutathione S-transferase arise from dimeric combination of at least four immunologically and functionally distinct subunits. Biochem J* 232:781-790, 1985
- 2) Habig WH, Pabst Mj, Jakoby WE: *Glutathione S-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. J Biol Chem* 25:6130-7139, 1974
- 3) Mannervik B: *The isozyme of glutathione transferase. Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 57:357-417, 1985
- 4) Ketterer B, Cole B, Myer DJ: *The role of glutathione in detoxification. Environ Health Perspect* 49:59-69, 1963
- 5) Kamisaka, Habig WH, Ketley JN, Arias IM, Jakoby WB: *Multiple forms of human glutathione S-transferase and their affinity for bilirubin. Eur J Biochem* 60:153-161, 1975
- 6) Hesse S, Orrenius S: *Inhibition of binding of benzo(a)pyrene metabolites to nuclear DNA by glutathione*

- S-Transferase. Biochem Biophys Res Commun* 94: 612-617, 1980
- 7) Rushmore TH, Farber E: *Identification of an characteristic cytosolic polypeptide of rat preneoplastic hepatocyte nodules as placental glutathione S-transferase. Biochem Biophys Res Commun* 143:98-103, 1987
- 8) Sato K, Kitahara A, Satoh K, Ishikawa T, Tatematsu M, Ito N: *The placental form glutathione S-transferase as new marker protein for preneoplasia in rat chemical hepatocarcinogenesis. Gann* 75:199-202, 1984
- 9) Kwak SJ, Park SC: *Purification and characterization of glutathione S-transferase π for human placental tissues. Seoul J Medicine* 29:107-118, 1988
- 10) Mikata T, Tsukada H: *Sexual difference in the histochemical characteristic of "altered cell foci" in the liver of aged Fisher 344 rats. Jpn J Cancer Res* 78:785-790, 1987
- 11) Del Boccio G, Di Ilio C, Alin P, Jornvall H, Mannervik B: *Identification of a novel glutathione transferase in human skin homologous with class alpha glutathione transferase in the rat. Biochem J* 244:21-25, 1987
- 12) Shiratori YS, Soma Y, Maruyama H, Sato S, Takano A, Sato K: *Immunohistochemical detection of the placental form of glutathione S-transferase in dysplastic and neoplastic human uterine cervix lesions. Cancer Res* 47:6806-6809, 1987
- 13) 최기영, 김형춘, 송계용, 박상철 : *발암원으로 유도된 흰쥐 간의 태반형 glutathione S-transferase 양성 증식성 결절의 병리조직학적 연구. 중앙의대지* 13:367-380, 1988
- 14) 유재형, 송계용 : *폐암의 keratin 단백질현에 관한 면역조직화학적 연구. 중앙의대지* 13:433-438, 1988
- 15) Sato K, Soma Y: *Purification and subunit structural and immunological characterization of five glutathione S-transferase in human liver and acidic form as a hepatic tumor marker. Biochem Biophys Acta* 869: 247-258, 1977
- 16) Smith GJ, Litwack G: *Lignandin, the glutathione S-transferase and chemically induced hepatocarcinogenesis. Cancer Res* 37:8-14, 1977
- 17) Solt DB, Medicine A, Farber E: *Rapid emergence of carcinogen induced hyperplastic regions in a new model for the sequential analysis of liver carcinogenesis. Am J Path* 88:595-618, 1977
- 18) Roomi MW, Ho RK, Sarma DSR, Farber E: A

common biochemical pattern in preneoplastic hepatocyte nodules generated in four different nodules in rat. Cancer Res 45:564-571, 1985

- 19) Kitahara A, Satoh K, Nishimura K, Ishikawa T, Ruike K, Sato K, Tsuda H, Ito N: *Changes in molecular forms of rat hepatic glutathione S-transferase during chemical hepatocarcinogenesis. Cancer Res 44:2698-2703, 1984*

— Abstract —

Immunohistochemical Observation of Placental Form of Glutathione S-Transferase in Squamous Cell Carcinoma

Mi Kyung Kim, M.D., Jin Seok Seo, M.D.

Kye Yong Song, M.D. and Ja June Jang, M.D.

*Department of Pathology, College of Medicine
Chung-Ang University and Seoul National University*

Sang Chul Park, M.D.

*Department of Biochemistry, College of Medicine,
Seoul National University*

Glutathione S-Transferase (GST) is a conjugation enzyme in the metabolism of exogenous and endogenous lipophilic compounds for their excretion and detoxification. Acidic isozyme of GST, GST-Pi, has been recognized as a preneoplastic marker in the experimental hyperplastic nodules of liver in rats, and GST-Pi is abundant in the squamous cells of the skin, also. This histochemical study was carried out to evaluate the

distribution and the relationship between the differentiation status of squamous cells in dysplastic or neoplastic epithelium in various organs.

The human placental form of glutathione S-transferase (GST-Pi) were stained immunohistochemically with specific antiGST-Pi rabbit antibody in 23 cases of human squamous cell carcinomas. The patients consisted of 14 cases from the uterine cervix, 3 cases from the esophagus, 3 cases from the lung and 3 cases from the larynx

The results obtained were as follows;

1. Basal cells in normal mucosa were stained negative for GST-Pi while superficial keratinocytes were stained moderately positive. Basal dysplastic cells were stained negatively or weakly positive. Carcinoma cells especially large cells either keratinizing or nonkeratinizing were stained moderately to strongly. Carcinoma cells surrounding keratin pearl were strongly reacted with GST-Pi than other carcinoma cells.

2. Differentiated cells of squamous cell carcinoma showed moderate to strong positive reaction to GST-Pi staining irrespective of its site of origin

3. Therefore, immunohistochemical staining pattern of GST-Pi in various squamous carcinoma cells showed similar immunohistochemical reaction to the GST-Pi, which is closely correlated to the degree of differentiation, keratinization and also suggested that squamous carcinoma cells had abundant GST-Pi related detoxifying system

Key Words: Glutathione S-Transferase, Squamous cell carcinoma, GST-Pi

Legend for Figures

- Fig. 1.** Immunohistochemical staining of GST-Pi in cervical squamous cell carcinoma, nonkeratinizing type, reveals moderate positive reaction in cancer cells. (PAP, GST-Pi ×200)
- Fig. 2.** Immunohistochemical staining of GST-Pi in cervical squamous cell carcinoma, keratinizing type, reveals strong positive reaction in keratin pearl forming cancer cells. (PAP, GST-Pi, ×100)
- Fig. 3.** Immunohistochemical staining of GST-Pi in esophageal squamous cell carcinoma, nonkeratinizing, reveals strong positive reaction in cancer cells. (PAP, GST-Pi, ×100)
- Fig. 4.** Immunohistochemical staining of GST-Pi in laryngeal squamous cell carcinoma, keratinizing, reveals strong positive reaction in cancer cells. (PAP, GST-Pi, ×200)

