

子宮頸部 扁平上皮癌에서 自然發生하는 Apoptosis에 關한 研究

啓明大學校 醫科大學 病理學教室

金贊煥 · 朴瑾奎 · 權建榮 · 李相淑 · 張恩淑

서 론

Apoptosis는 세포소실의 한 형태로서 그 기전이 현재 까지도 불투명한 상태이나 포유동물의 세포수 조절에 보조적인 역할을 하며 세포분열과는 반대 작용을 한다. Apoptosis는 다양한 환경적변화 또는 자극, 즉 생리적 및 병적인 변화 모두에 의해 시작되어지고 또 억제되어진다¹⁾. 형태학적인 면으로 비추어 볼때 apoptosis는 활동적이며 이미 유전적으로 계획되어진 현상으로 세포소멸의 특이한 형태학적 소견을 보여주고 있다^{2~5)}. 즉 apoptosis의 특징적인 형태학적 변화로 두 개의 분명한 단계를 거치게 되는데, 첫째 핵과 세포질의 농축, 핵의 분쇄 그리고 세포표면으로 돌출된 후 떨어져 나가 독립된 막성구조물인 apoptotic body를 형성하는 단계와, 둘째 세포 주위의 탐식세포에 의해 이들 apoptotic body가 탐식되어 소멸되는 단계를 관찰할 수 있다⁶⁾.

이러한 apoptosis는 건강한 성인조직에서 세포의 교체과정중에 흔히 나타나며^{1,6~8)}, 정상적인 태생기 발생에서의 부분적인 세포소실 그리고 여러 장기 또는 조직의 생리적 퇴화 및 소멸에서도 일어난다¹⁾. 또한 종양의 성장에 있어서 자연적인 세포소실시에도 나타나며^{9~17)} 치료를 하지 않은 혹은 방사선치료후의 악성종양, 그의 피부의 기저세포암등 악성종양에서도 apoptosis가 관찰됨을 보고하고 있다^{18~21)}.

이에 저자는 상기한 문헌적 지견을 토대로 자궁경부 편평상피암 조직에서 apoptosis가 발생하는가를 알아보고, apoptosis의 역할과 그 기전을 규명하고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1988년 12월부터 1989년 5월까지 계명대학교 의과대학 산부인과학 교실을 내원한 환자중 자궁경부에서 발생한 편평상피암 30예의 종양조직을 채취하여, 전자현미경적 검사를 위한 시료를 먼저 채취하고 남은 조직은 모두 광학현미경적 관찰을 위한 재료로 사용하였다.

1. 광학현미경적 관찰

채취한 조직은 10% 중성 포르말린에 고정하고 탈수한 후 침투과정을 거쳐 파라핀에 포매한 후 2~3 μm 의 박 절편을 만들어 hematoxylin & eosin 염색을 하여 관찰하였다. 또한 각 예의 종양조직 내에서 광학대(400배)로 20개소를 임의로 선택하여 apoptosis 및 mitosis를 헤아려 각각 평균치를 구하여 그 범위를 정하였고 종양조직의 분화도에 따른 전체 평균치도 구하여 서로 비교하였다.

2. 투과전자현미경적 관찰

투과전자현미경용으로 채취한 자궁경부 편평상피암 조직을 1 mm³의 크기로 세절하여 2.5% glutaraldehyde 용액(0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)으로 0~4°C에서 2시간 전고정을 하고, 0.1 M phosphate buffer로 세척한 후 1% OsO₄ 용액에 2시간 후고정을 한 뒤 같은 buffer 용액으로 세척하여 계열 ethanol로 탈수를 하고 propylene oxide로 치환한 후 Luft 방법²²⁾에 의한 epon 혼합물로 포매하여 37°C에 12시간, 45°C에 12시간, 60°C에 48시간 동안 방치하여 열증합을 시켰다. 포매된 조직을 1 μm 두께로 박절하여 toluidine blue 염색을 실시하여 관찰부위를 결정한 다음, Sorvall MT-5000 형 ultramicrotome에 Dupont diamond

*본 논문의 요지는 1989년 10월 제41차 추계학술대회에서 구연으로 발표되었음.

knife를 부착하여 회백색(60~90 nm)의 간섭색을 나타내는 초박절편을 grid에 부착시킨 뒤 Watson²³⁾ 및 Reynolds방법²⁴⁾에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중전자염색을 실시하여 Hitachi H-600형 투과전자현미경으로 관찰하였다.

3. 주사전자현미경적 관찰

투과전자현미경용 시료 채취후 남은 조직을 1×1×4 mm 정도 크기로 자른후 일부조직은 DMSO (dimethyl sulfoxide) cracking을 위하여 또 일부조직은 세포내 미세구조물을 관찰하기 위하여 aldehyde-prefix O-D-O 방법^{25,26)}으로 용해(maceration)시켰다. DMSO 할단을 위해서는 절취된 조직을 1일간 0.5% glutaraldehyde 용액과 0.5% paraformaldehyde 용액을 혼합한 고정액에 다시 고정한 후 1% OsO₄ 용액으로 2시간 후

고정을 하고 0.1 M phosphate buffer 용액으로 수세한 다음 25% DMSO용액에 30분간, 50% DMSO용액에 30분간 담근 다음 액체질소로 동결한 후 조직을 할단하였다.

할단된 조직은 50% DMSO 용액에 녹여서 같은 buffer 용액에 수세한 후 2% tannic acid에 12시간 침투시킨 다음 buffer 용액으로 수세한 후 1% OsO₄ 용액으로 2시간 동안 conductive staining을 한 후 계열 ethanol로 탈수후, isoamyl acetate로 침투를 시켜, Hitachi HCP-2형 critical point dryer로서 이산화탄소를 이용한 임계점 건조를 실시하였다. 건조된 시료를 시료관에 부착한 후 Eiko회사제 IB-3형 ion-coater로 Pt-Pd를 사용하여 증착한 후 Hitachi S-520형 주사전자현미경으로 관찰하였다.

용해를 위하여 절취된 시료는 1% OsO₄ 용액으로 30

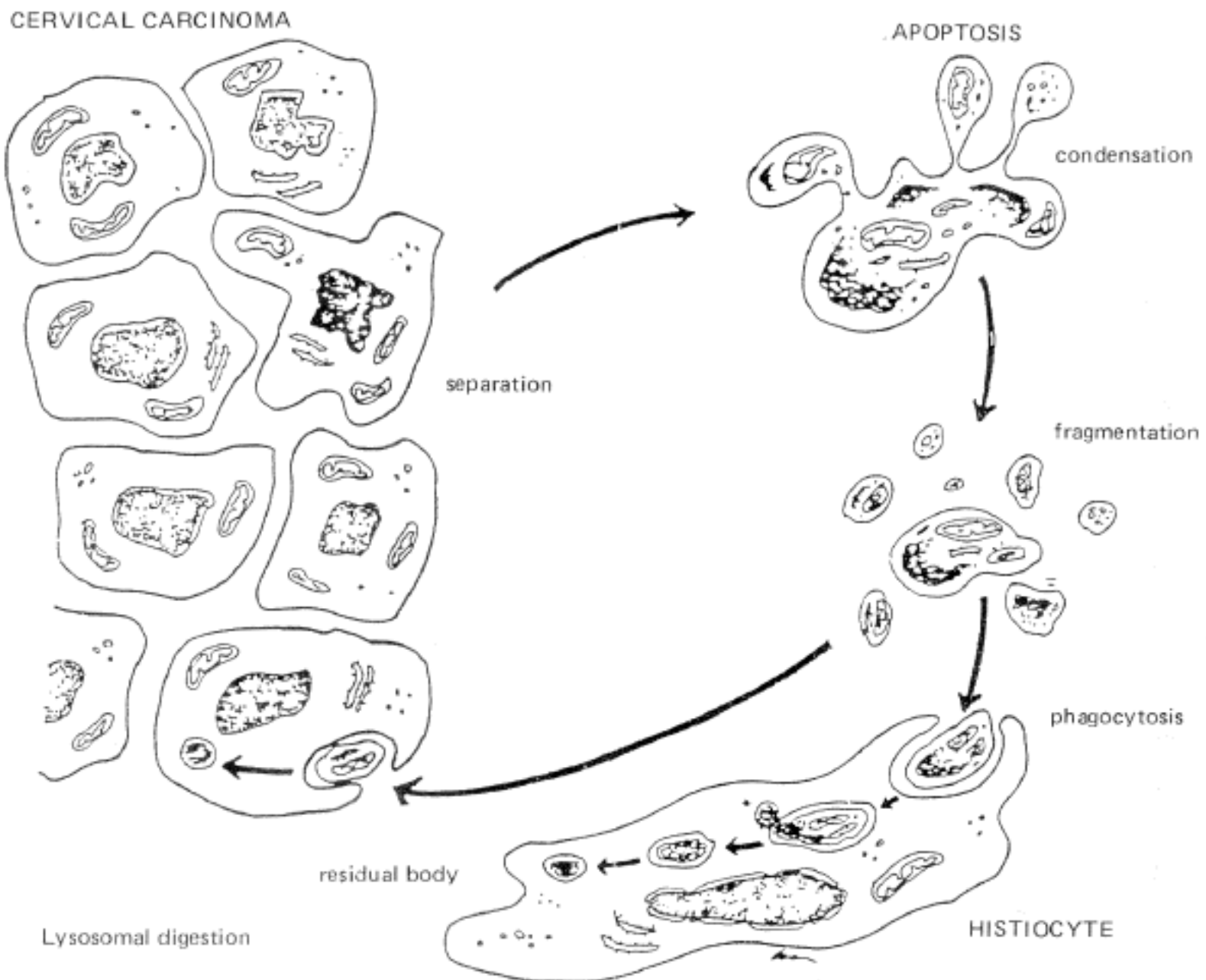


Fig. 1. Diagram to illustrate the morphological features of apoptosis in cervical carcinoma.

분간 후고정을 한 후 위와 같은 방법을 거쳐 할단한 후 다시 1% OsO₄ 용액으로 30분간 거친후 0.1% OsO₄ 용액으로 20°C에서 80시간 용해한 다음 conductive staining 부터는 할단용 시료제작 과정과 동일한 방법으로 처리하여 Hitachi S-520형 주사전자현미경으로 관찰하였다.

성 적

1. 광학현미경적 소견

개개의 종양세포에서 다양한 형태의 apoptosis가 단독으로 혹은 몇개의 군집을 이루면서 종양세포들 사이에서 관찰되었고(Fig. 2, 3) 이러한 소견은 채취된 종양조직 30예 모두에서 관찰되었다. 초기단계의 apoptosis로서 핵과 세포질의 농축 및 핵의 분쇄가 일어나는 소견을 보였는데(Fig. 4) 이들 분쇄된 핵과편들은 막성구조물에 의해 둘러싸여 apoptotic body를 형성하였으며, 이러한 apoptotic body는 흔히 인접한 종양세포나 탐식세포에 의해 탐식되어 있었다(Fig. 5).

각 예의 편평상피암 조직에서 apoptosis가 허혈성 괴사(ischemic necrosis)가 있는 부위를 중심으로 그 주위에 보다 많이 관찰되었다. 편평상피암 30예중 분화도가 중등도이상의 좋은 예는 16예였고 분화도가 나쁜 예는 14예로서 이들 중 분화도가 나쁜 편평상피암에서 분화도가 좋은 편평상피암보다 apoptosis가 더욱 높은 빈도로 나타났다(Table 1).

2. 전자현미경적 소견(투과 및 주사)

Apoptosis가 일어나고 있는 종양세포에서는 흔히 핵의 농축과 분쇄를 볼 수 있었다(Fig. 6). 이들 핵은 전자밀도가 높은, 풍부한 이질염색질을 가지면서 핵의 모양

과 크기는 매우 다양하였고 불규칙적인 핵막에 인접하여 이질염색질의 응집을 보여 주었다. Apoptotic cell의 세포질내에서는 전자밀도가 낮은 공포형성과 함께 세포소기관들의 농축을 가끔 볼 수 있었으나 대부분의 세포소기관들은 형태학적으로 비교적 안정된 모양을 유지하고 있었다(Fig. 7).

Apoptotic body들은 대개 종양세포의 인근에 위치하고 있었으며 단독으로 또는 몇개의 군집으로 나타나고, 그 중에는 세포소기관 들로만 구성된 apoptotic body들은 분쇄되어진 핵의 파편들과 함께 비교적 형태가 잘 보존된 세포소기관들을 포함하며, 이들은 새로운 형질막에 의해 둘러싸인 막성구조물의 형태로 관찰되었다(Fig. 9, 10). 이들 apoptotic body는 그 모양과 크기에 있어서 원래의 종양세포보다 상당히 위축된 양상을 보였으나 막성구조물에 의해 둘러싸여 하나의 독립된 구조물로 관찰되었다(Fig. 10, 11). 이러한 apoptotic body는 흔히 주위의 종양세포나 탐식세포의 세포질내에서 탐식되어진 양상으로 나타나며(Fig. 12), 탐식한 세포의 세포질내에서 primary lysosome과 결합하여 secondary lysosome을 만들면서 lysosomal enzyme에 의해 이들 apoptotic body는 그 구조물이 분해되어 residual body를 형성하였다(Fig. 13, 14).

고 찰

세포의 자연적인 소실이 종양조직의 성장에 있어서도 중요한 척도가 된다고 보고되어 왔다⁹⁻¹⁷. 그러나 종양조직내 세포의 자연적인 소실의 정확한 기전에 대해서는 아직까지 알려진 바가 많지 않은 편이다. 본 연구에서 보여준 자궁경부 편평상피암 조직에서 apoptosis의 발생양상 및 그 소멸과정은 이미 보고된 피부의 기저세포암등 악성종양에서 나타난 apoptosis¹⁸⁻²¹와 생리적 및 병적 상태하에서 여러 비종양성 조직에 나타난 apoptosis^{1,5-8}과 거의 비슷한 양상으로 관찰되었다. 즉, 그 첫째 단계로 핵과 세포질의 농축 및 분쇄가 일어나는데 이들 분쇄된 조각들은 새로운 형질막에 의해 둘러싸여 새로운 막성구조물인 apoptotic body를 형성하였고 이때 apoptotic body내의 세포소기관들은 그 형태를 비교적 잘 유지하고 있었다. 둘째단계로, 형성된 apoptotic body는 주위에 있는 다른 종양세포 또는 탐식세포에 의해 탐식되어지고 탐식된 apoptotic body는

Table 1. Comparison of the number of apoptosis and mitosis, according to the degree of differentiation of squamous carcinoma in uterine cervix

Degree of differentiation	Number per HPF*		
	Cases	Apoptosis	Mitosis
Well to moderate	16	7.3 (0 - 15)	2.1 (0 - 5)
Poor	14	21.1 (0 - 56)	4.2 (2 - 7)

* : high power field

lysosomal enzyme에 의해 분해되어 소멸됨을 관찰할 수 있었다.

Apoptotic body는 농축된 세포소기관들을 포함하고 있는데^{8,27)} 이들은 형태학적으로 유지되어 있고^{2~5,7,8, 18,27,28)}, 화학적으로도 안정된 것으로 알려져 있다^{6,29,30)}. 본 연구에서는 화학적인 편은 알 수 없으나 형태학적 소견으로 볼 때 apoptotic body 내의 세포소기관들은 비교적 그 형태를 잘 유지하고 있음을 알 수 있었다. 이는 일반적으로 알려진 세포죽음의 형태인 괴사와는 분명한 차이가 있다^{31,32)}. 즉, 괴사에서는 특징적으로 mitochondria의 심한 부종과 세포내 다른 소기관들의 용해 및 세포막의 파열이 동반된다³³⁾. 또한 괴사는 그 발생되는 장소에 있어서 인접한 세포들과 함께 집단적으로 일어나지만 apoptosis는 조직내에서 산발적으로 한세포만을 침범하는 것이 특징이다^{31,32)}.

Apoptotic body는 종양조직의 세포외 혹은 세포내에서 단독으로 또는 몇개의 군집을 이루면서 종양세포들의 사이에서 관찰되며 인근 종양세포의 세포질내에 이들 apoptotic body가 관찰됨은 세포밖으로 유리된 apoptotic body가 인접한 다른 종양세포에 의해 탐식된 것으로 생각할 수 있다. 여기에서 apoptotic body를 탐식한 세포는 대부분이 종양세포임이 관찰되었는데 이는 상피세포암에서의 apoptotic body의 탐식은 탐식세포보다는 인접한 종양세포에 의해 보다 빈번하게 이루어진다는 보고¹⁸⁾와 일치되는 소견이라 할 수 있겠다.

탐식된 apoptotic body는 이를 탐식한 세포의 세포질내에서 일련의 소멸과정을 거치게 되는데 이는 초기형태학적으로 볼 때 자가용해(autolysis) 때와 유사하다^{4,34)}. 그러나 자가용해 때의 자가탐식공포는 탐식된 apoptotic body와는 달리 핵의 잔재물을 갖지 않는다⁷⁾. 탐식된 apoptotic body를 처리하는 과정에서 lysosomal enzyme이 중요한 역할을 담당하게 되는데^{5,18,19,30)} 이 lysosomal hydrolase는 탐식세포내 phagosome의 존재로 인해서 합성이 촉발되며³⁰⁾ 종양세포에 있어서도 apoptotic body를 탐식함으로써 인해 hydrolase의 양이 증가된다고 보고하고 있다¹⁹⁾. 이 lysosomal enzyme에 노출된 apoptotic body는 분해되어 빠른시간내에 전자밀도가 높은 residual body로 남게 된다^{2,3,5,8,18)}. 이러한 apoptotic body의 소멸과정은 본 연구성적에서 잘 관찰되고 있으며 이러한 일련의 과정, 즉 apoptotic body의 형성과 소멸은 24시간 이내에 비교적 빨리 이루어진다는

것이 다른 문헌에서도 보고되고 있다^{5,28)}.

비교적 빠르게 성장하고 있는 종양에서는 apoptosis와 세포분열이 모두 높은 빈도로 나타나며 이것은 종양의 성장속도를 결정하는데 있어서 중요한 두가지 요인으로 생각되며 이들 두 현상이 서로 균형을 이룸으로서 종양의 성장을 조절한다고 보고있다¹⁾. 본 연구성적에서도 분화도가 나쁜 편평상피암 조직에서 분화도가 좋은 편평상피암보다 apoptosis가 높은 빈도로 나타나고 있었으며 apoptosis가 많이 나타나는 지역에서 세포분열 또한 높은 빈도로 관찰되었다. 그러나 이들이 종양조직의 성장에 어떠한 영향을 미치는가에 대해서는 본 연구성적만으로는 알 수 없었으며 이 방면에 관하여서는 보다 자세한 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다. 또 한가지 본 연구에서 관찰된 흥미로운 소견으로 apoptosis가 종양조직내에서 특히 허혈성 괴사가 일어난 지역을 중심으로 보다 빈번하게 발생하였는데 이는 조직의 허혈상태가 apoptosis를 유발하는데 있어서 중요한 요인이 될 수 있음을 보여주는 현상이라 생각된다¹⁾.

Kerr⁵⁾에 의해 유해인자들이 조직내에서 세포의 자연적 소실에 관여하리라는 보고가 있는 후 apoptosis의 유발 혹은 억제인자에 대한 연구가 활발히 진행되어 왔다^{1~5,8,35)}. Apoptosis의 발생 및 억제요인은 아직 명확하게 규명되어 있지 않고¹⁾, 일부에서는 유전적으로 이미 계획되어진 현상으로도 보고 있다^{2~5)}. Menkes등³⁵⁾은 계태(chick embryo)에서 Müllerian관의 발생 및 억제과정에도 apoptosis가 중요한 역할을 하는 것으로 보고하였다. 요컨대, 조직내의 영양상태나 호르몬의 영향, 면역학적인 요소, 내적조절 그리고 세포의 노화등이 apoptosis의 발생 및 억제에 있어서 복합적인 요소가 될 것으로 생각된다⁸⁾.

따라서 생리적 및 병적상태등 모든 경우에서 apoptosis는 일어나고 또한 억제되어지는 것으로 생각되며, 특히 악성종양에서도 apoptosis가 일어남이 본 연구성적에서 증명되었다. 더불어 apoptosis의 진행과정은 apoptotic body의 형성단계와 인접한 종양세포 또는 탐식세포에 의한 apoptotic body의 탐식과정을 거쳐서 소멸되는 것으로 생각되며 apoptosis를 일으키는 다양한 요인들과 그 발생에 관한 보다 자세한 기전에 대해서는 앞으로 더욱 밝혀져야 할 과제라 사료된다.

요 약

1988년 12월부터 1989년 5월까지 계명대학교 의과대학 산부인과학교실을 내원한 환자중 30예의 자궁경부에서 발생한 편평상피암 조직을 채취하여 광학 및 전자현미경으로 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

광학현미경적으로 다양한 형태의 apoptosis가 단독으로 혹은 군집으로 이루면서 종양세포들 사이에서 관찰되었고, 형성된 apoptotic body는 인접한 종양세포나 탐식세포에 의해 탐식되었다. 전자현미경적으로 apoptotic cell은 흔히 핵의 농축과 분쇄를 볼 수 있었고, 세포질내에는 세포소기관들이 형태학적으로 유지되어 있었다. Apoptotic body는 분쇄되어진 핵의 파편들과 비교적 형태가 보존된 세포소기관들을 포함하며 형질막에 의해 둘러싸여 하나의 독립된 막성구조물로 관찰되었다.

이상의 성적으로 저자는 apoptosis가 악성조직에서도 일어나며 분화도가 좋은 편평상피암 조직보다 분화도가 나쁜 편평상피암 조직에서 더욱 높은 빈도로 관찰됨을 알았다. 또한 apoptosis의 진행과정은 apoptotic body의 형성단계와 인접한 종양세포 또는 탐식세포에 의한 apoptotic body의 탐식과정을 거쳐서 소멸되는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR: Apoptosis: A basic biologic phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26:239-257, 1972
- 2) Klion FM, Schaffner F: The ultrastructure of acidophilic "councilman-like" bodies in the liver. *Am J Pathol* 48:755-767, 1966
- 3) Farbman AI: Electron microscope study of palate fusion in mouse embryos. *Devl Biol* 18:93-102, 1968
- 4) Kerr JFR: An electron-microscope study of liver cell necrosis due to Helioirine. *J Pathol* 97:557-564, 1969
- 5) Kerr JFR: Shrinkage necrosis: A distinct mode of cellular death. *J Pathol* 105:13-20, 1971
- 6) Kerr JFR: A histochemical study of hypertrophy and ischemic injury of rat liver with special reference to changes in lysosomes. *J Pathol Bact* 90:419-435,

- 1965
- 7) Kerr JFR: Some lysosome functions in liver cells reacting to sublethal injury. In Dingle JT, Fell HB (eds): *Lysosomes in biology and pathology*. Vol.3 Amsterdam, North-Holland, 1972, 126-142
- 8) Wyllie AH, Kerr JFR, Currie AR: Cell death in the normal neonatal rat adrenal cortex. *J Pathol* 111: 255-261, 1973
- 9) Iversen OH: Kinetics of cellular proliferation and cell loss in human carcinomas. A discussion of methods available for in vivo studies. *Eur J Cancer* 3:389-394, 1967
- 10) Refsum SB, Berdal P: Cell loss in malignant tumors in man. *Eur J Cancer* 3:235-236, 1967
- 11) Steel GG: Cell loss as a factor in the growth rate of human tumors. *Eur J Cancer* 3:381-387, 1967
- 12) Frindel E, Malaise E, Tubiana M: Cell proliferation kinetics in five human solid tumors. *Cancer* 22:611-620, 1968
- 13) Laird AK: Dynamics of growth in tumors and in normal organisms. In Bethesda SP (ed): *Human Tumor Cell Kinetics*. Natn. Cancer Inst Monogr 1969, pp 15-28
- 14) Clifton KH, Yatvin MB: Cell population growth and cell loss in the MTG-B mouse mammary carcinoma. *Cancer Res* 30:658-664, 1970
- 15) Weinstein GD, Frost P: Cell Proliferation in human basal cell carcinoma. *Cancer Res* 30:724-728, 1970
- 16) Lala PK: Studies on tumor cell population kinetics. In Bunch H (ed): *Methods in Cancer Research*. New York, Academic Press, 1971, 3-22
- 17) Lala PK: Evaluation of the mode of cell death in Ehrlich ascites tumors. *Cancer* 29:261-266, 1972
- 18) Kerr JFR, Searle J: A suggested explanation for the paradoxically slow growth rate of basal cell carcinomas that contain numerous mitotic figures. *J Pathol* 107:41-44, 1972
- 19) Kerr JFR, Searle J: The digestion of cellular fragments within phagolysosomes in carcinoma cells. *J Pathol* 108:55-58, 1972
- 20) Searle J, Collins DJ, Harmon B, Kerr JFR: The spontaneous occurrence of apoptosis in squamous carcinomas of the uterine cervix. *Pathology* 5:163-169, 1973
- 21) Wyllie AH: Commentary: What is apoptosis? *Histopathology* 10:995-998, 1986
- 22) Luft JH: Improvement in Epoxy resin embedding method. *J Biophysic Biochem Cytol* 9:409-414, 1961

- 23) Watson ML: *Staining of tissue sections of electron microscopy with heavy metals. J Biophysic Biochem Cytol* 226:475-479, 1958
- 24) Reynolds ES: *The use of lead citrate at high pH as electron opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol* 17:208-212, 1963
- 25) Tanaka K, Mitsushima A: *A revised osmium-DMSO-osmium method with aldehyde perfusion. J Microsc* 133:213-216, 1984
- 26) Hanaki M, Tanaka K, Kashima Y: *Scanning electron microscopic study on mitochondrial cristae in the rat adrenal cortex. J Electron Microsc* 34:373-380, 1985
- 27) Kerr JFR: *Shrinkage necrosis of adrenal cortical cells. J Pathol* 107:217-219, 1972
- 28) Wyllie AH, Kerr JFR, Macaskill IAM, Currie AR: *Adrenocortical cell deletion: the role of ACTH. J Pathol* 111:85-94, 1973
- 29) Kerr JFR: *Lysosome changes in acute liver injury due to Heliotrine. J Pathol Bact* 93:167-174, 1967
- 30) Ballard KJ, Holt SJ: *Cytological and cytochemical studies on cell death and digestion in the fetal rat foot: The role of macrophages and hydrolytic enzymes. J Cell Sci* 3:245-262, 1968
- 31) Searle J, Lawson TA, Abbott PJ, Harmon B, Kerr JFR: *An electron-microscope study of the mode of cell death induced by cancer-chemotherapeutic agents in populations of proliferating normal and neoplastic cells. J Pathol* 116:129-138, 1975
- 32) Searle J, Kerr JFR, Bishop CJ: *Necrosis and apoptosis: Distinct modes of cell death with fundamentally different significance. Pathol Ann* 17:229-259, 1982
- 33) Trump BF, Berezesky IK, Osornio-Vargas AR: *Cell death and the disease process. The role of calcium. In Bowen ID, Lockshin RA (eds): Cell Death in Biology and Pathology. London, Chapman and Hall Ltd, 1981, 209-242*
- 34) Trump BF, Goldblatt PJ, Stowell RE: *Studies on necrosis of mouse liver in vitro. Ultrastructural alterations in the mitochondria of hepatic parenchymal cells. Lab Invest* 14:343-371, 1965
- 35) Menkes B, Sandor S, Ilies A: *Cell death in teratogenesis. In Woollam DHM (ed): Advances in Teratology. Vol 4, London, Logos Press, 1970, 169-175*

— Abstract —

**The Spontaneously Occurred Apoptosis
in Squamous Carcinomas of
the Uterine Cervix**

Chan Hwan Kim, M.D., Kwan Kyu Park, M.D.
Kun Young Kwon, M.D., Sang Sook Lee, M.D.
and Eun Sook Chang, M.D.

*Department of Pathology
Keimyung University School of Medicine*

The apoptosis, a distinctive type of individual cell necrosis, has been considered to play a complementary but opposite role to mitosis in the regulation of animal cell populations. It can be initiated or inhibited by a variety of environmental stimuli, physiologically and pathologically. Apoptosis seems to appear in either non-neoplastic or neoplastic tissues, even malignant tumors in the state of untreatment or irradiation.

This study was carried out to investigate the spontaneous occurrence of apoptosis in squamous carcinomas of the uterine cervix and its mechanisms. Light microscopically, noted were the condensation and fragmentation of individual tumor cells with formation of apoptotic bodies that were frequently phagocytosed by nearby intact tumor cells. They were commonly seen in the neighbourhood of coagulative necrosis. Electron microscopically (TEM and SEM), noted were nuclear condensation, margination toward the nuclear membrane and fragmentation of membrane-bounded apoptotic bodies that were existed in intracellular or extracellular area. The cytoplasmic organelles in the apoptotic bodies were well preserved. The intracellular apoptotic bodies were phagosomes and reduced to electron-dense lysosomal residual bodies.

The conclusion obtained was as follow:

Apoptosis was found in all cases of squamous carcinoma of the uterine cervix, of which the frequency was higher in tumors of poor differentiation than those of well to moderate differentiation.

The process of the apoptosis is considered to pass through the step of formation of the apoptotic bodies, phagocytosis by adjoining tumor cells or histiocytes, and then degradation as lysosomal residual bodies.

Key Words: Apoptosis, Squamous carcinoma, Uterine cervix, TEM, SEM

Legends for Figures

Key for abbreviations

AC : Apoptotic cell

AB : Apoptotic body

SC : Neoplastic squamous cell

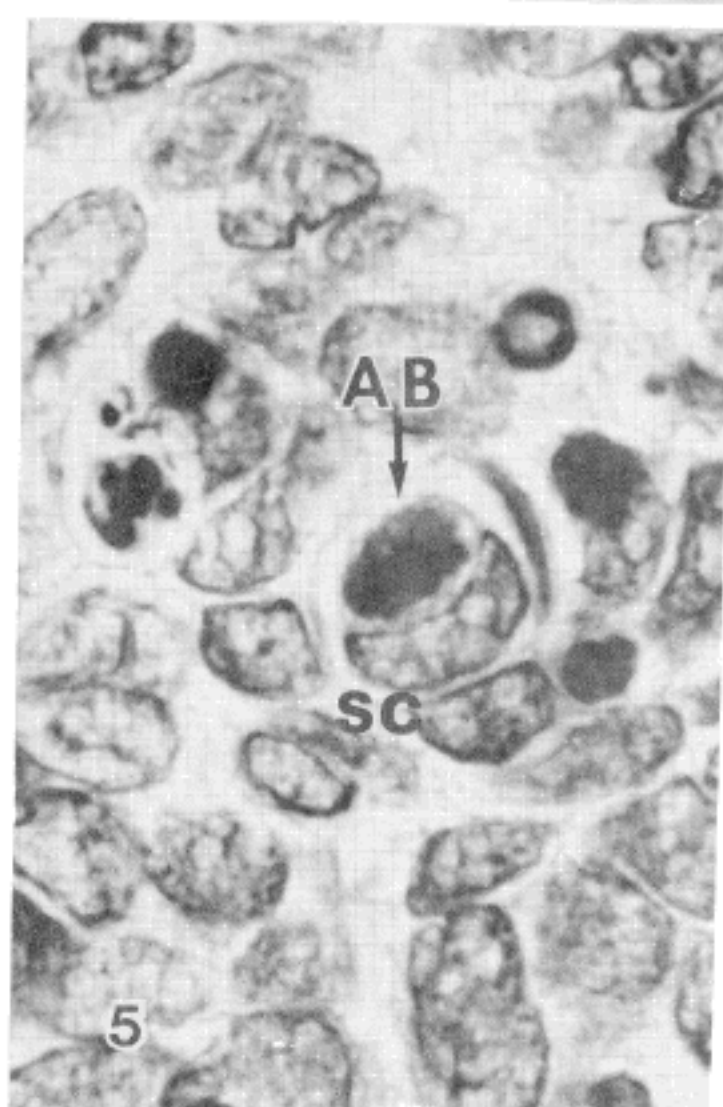
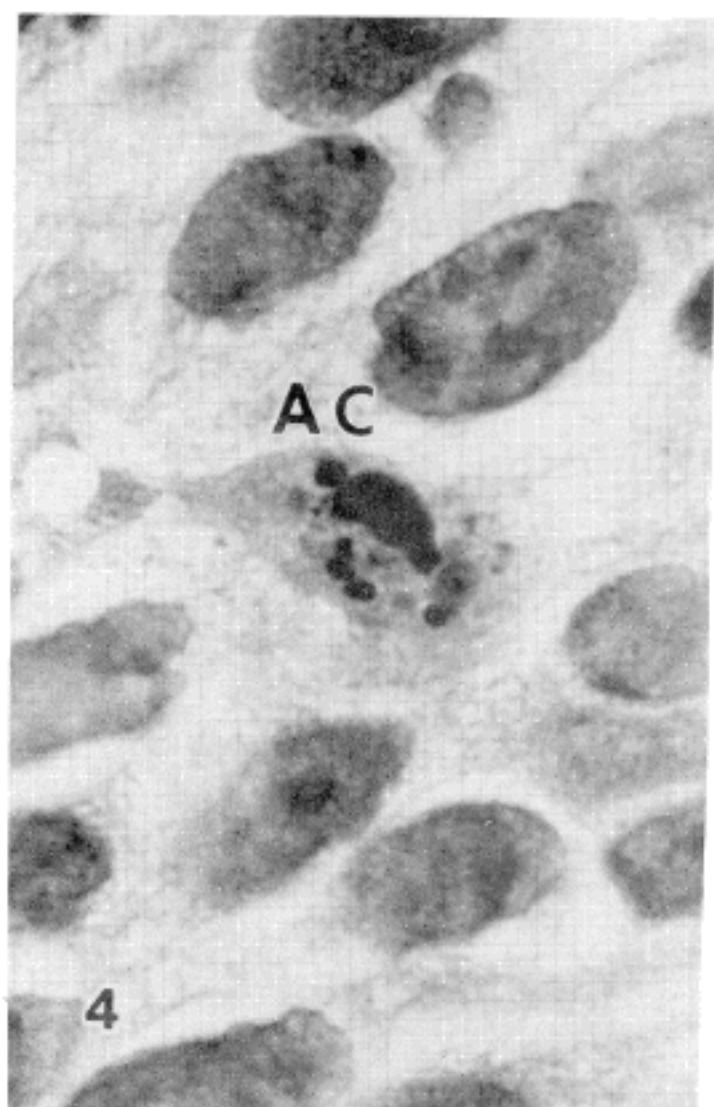
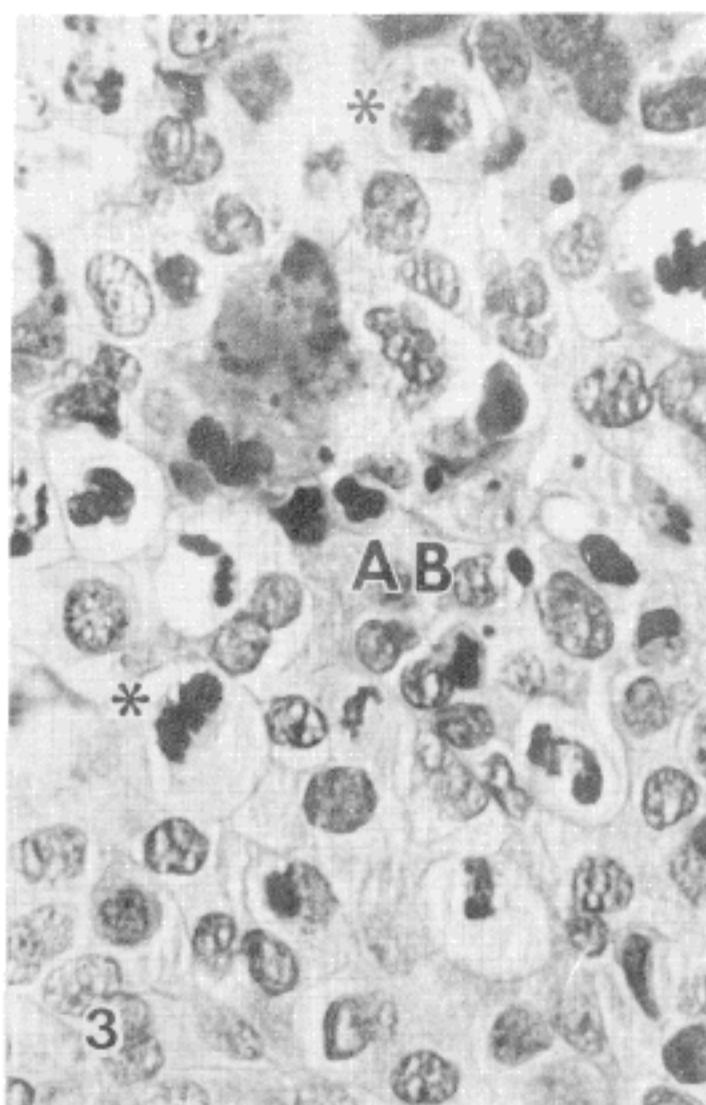
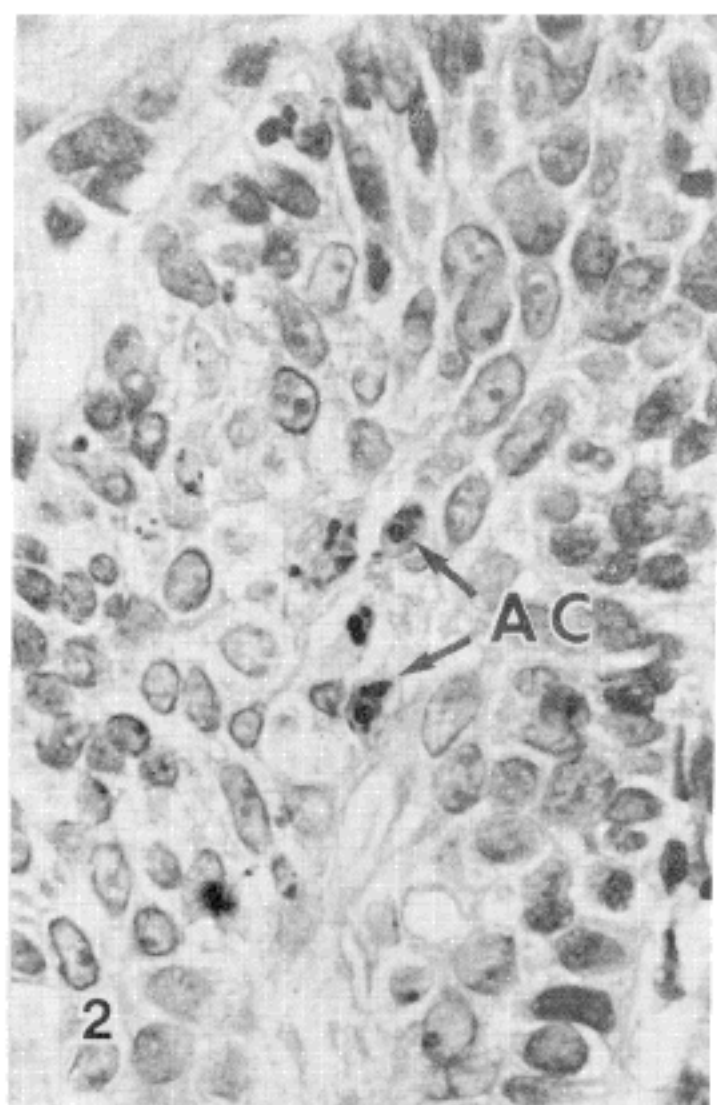
N : Nucleus

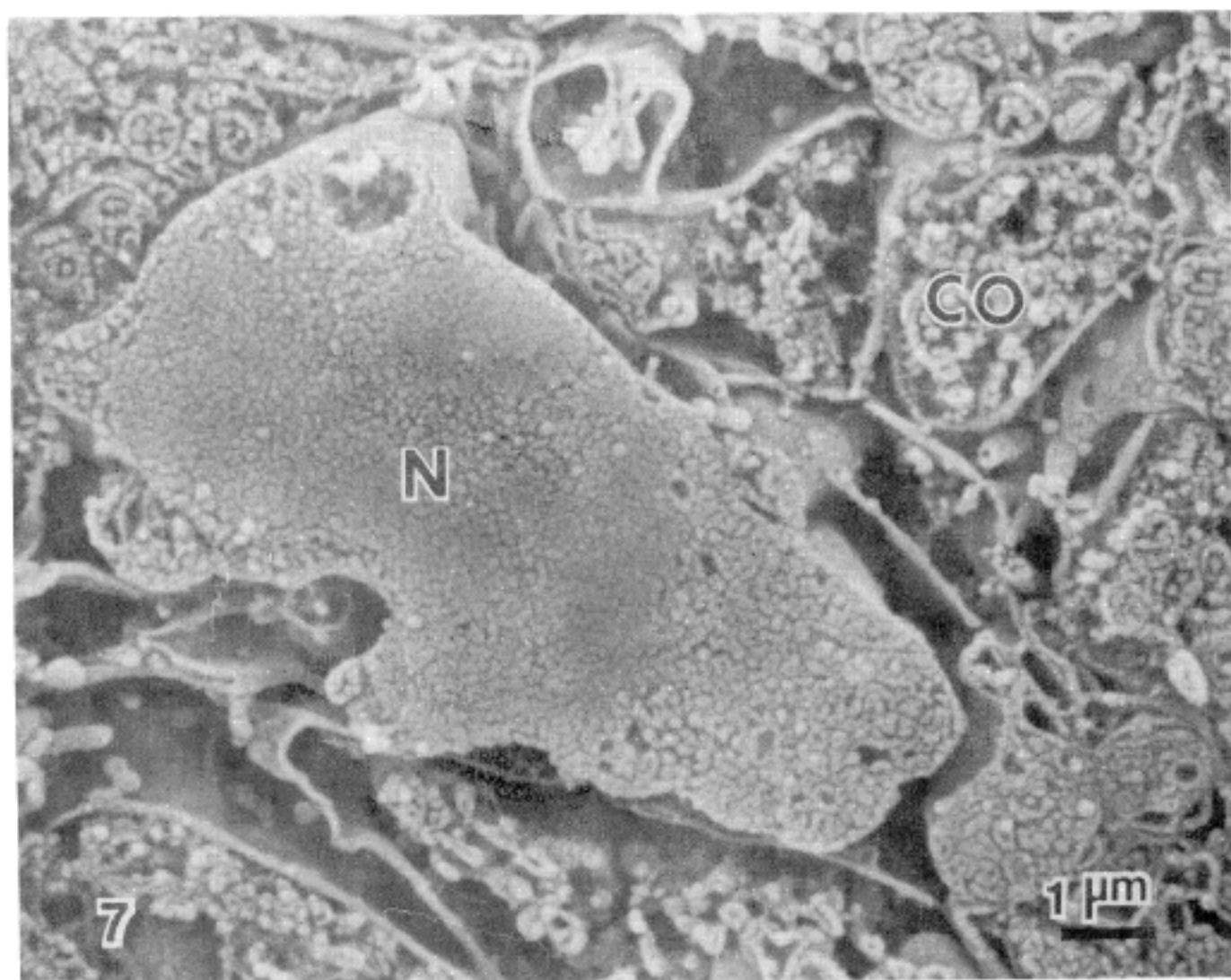
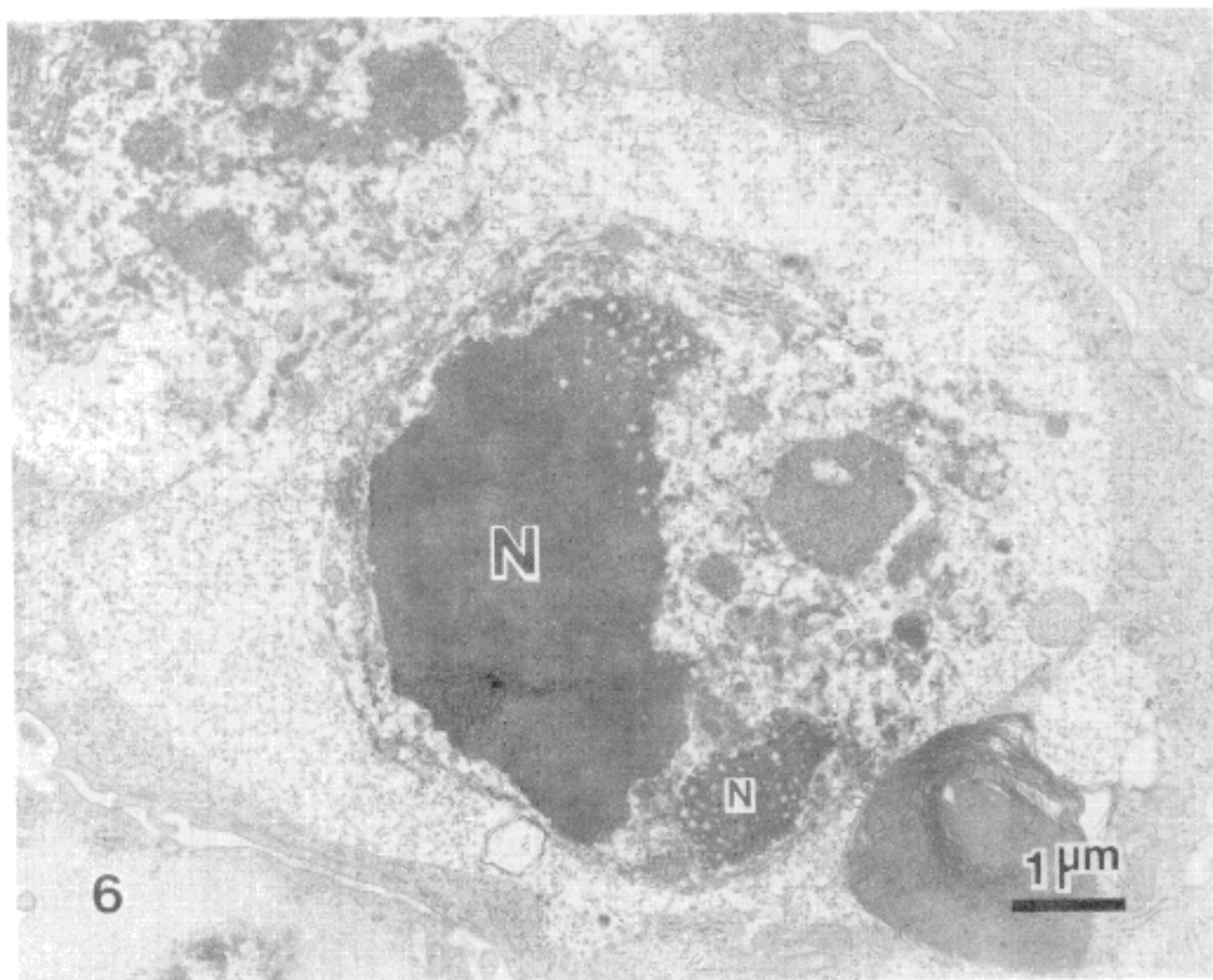
RB : Residual body

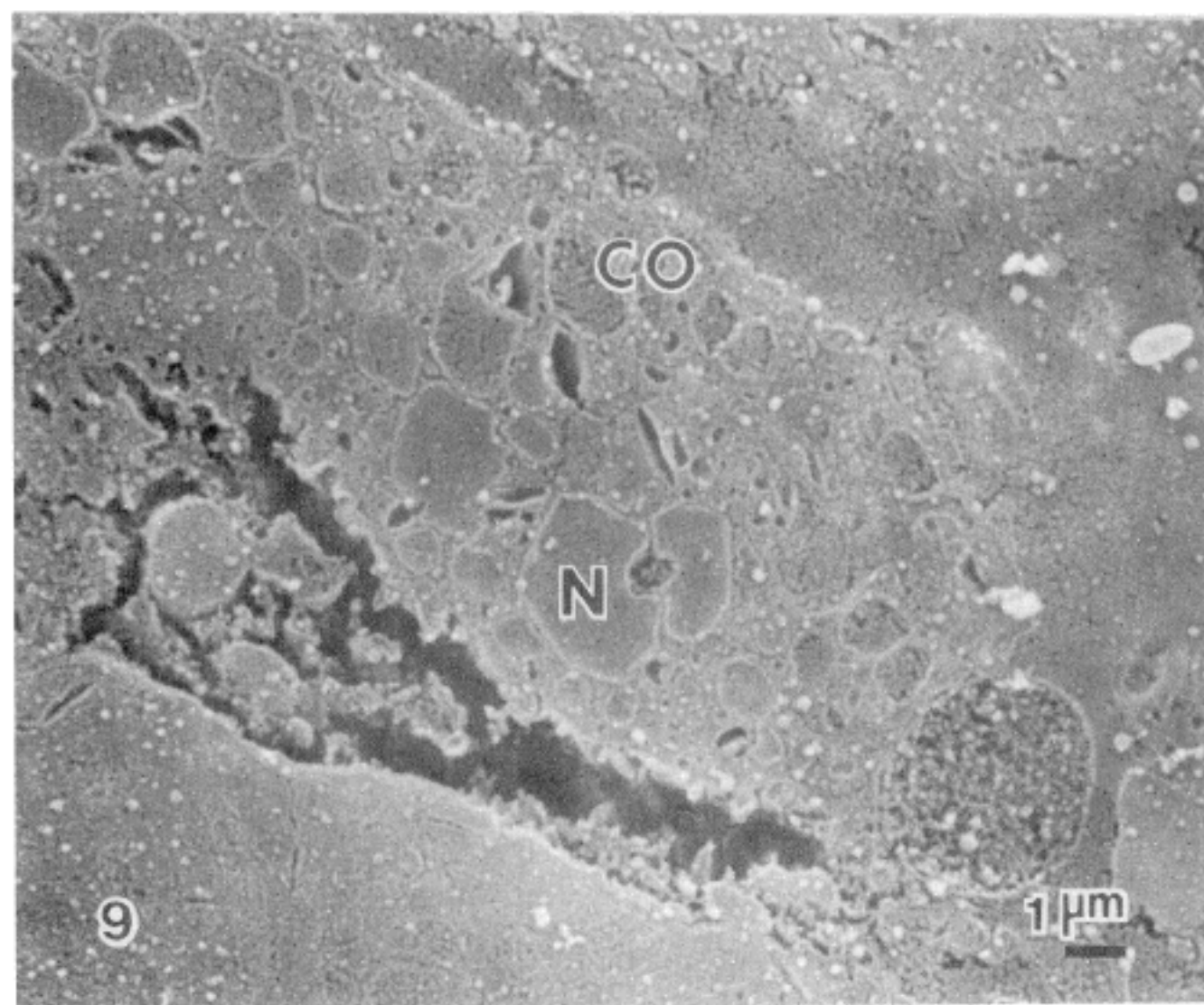
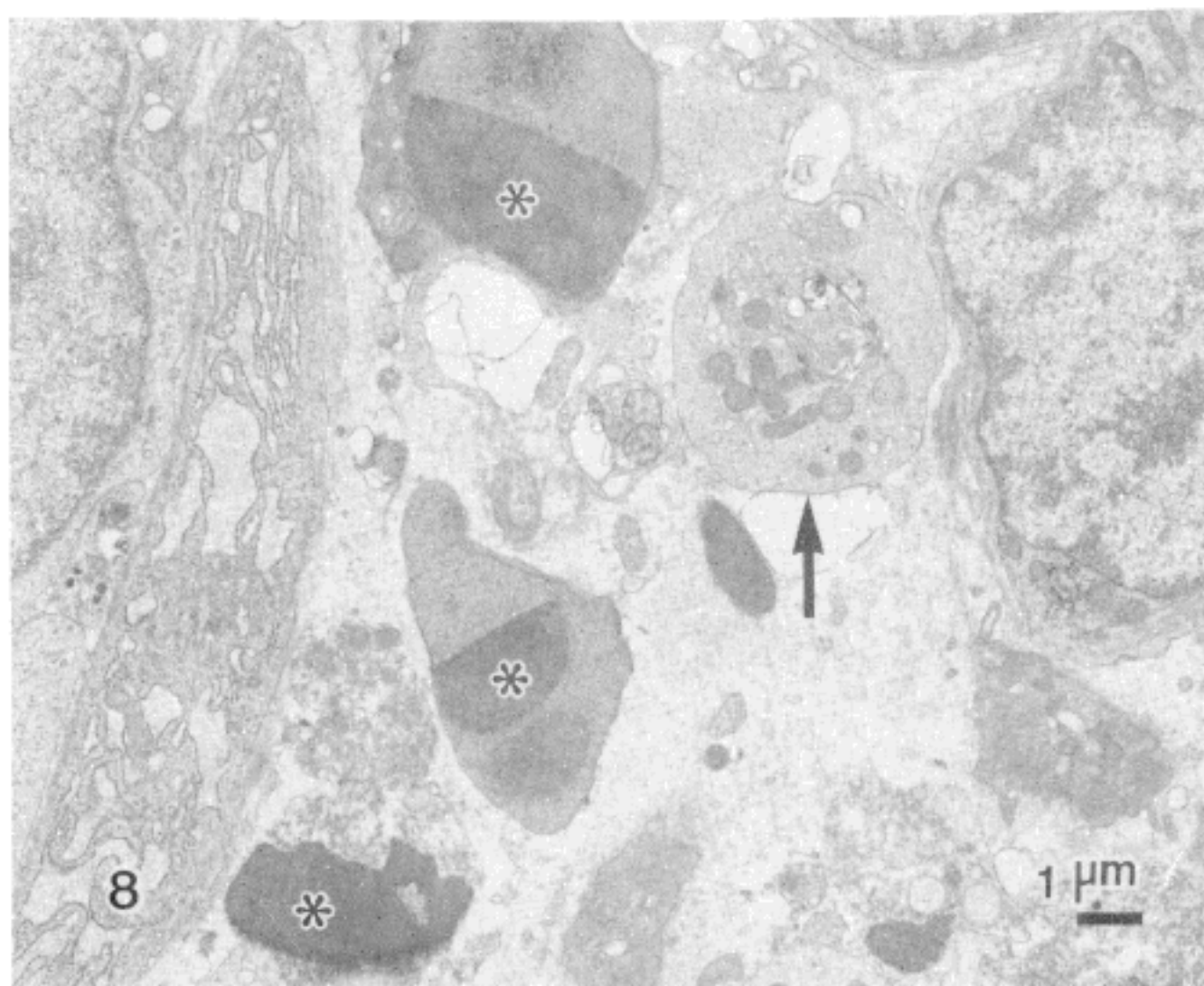
SL : Secondary lysosome

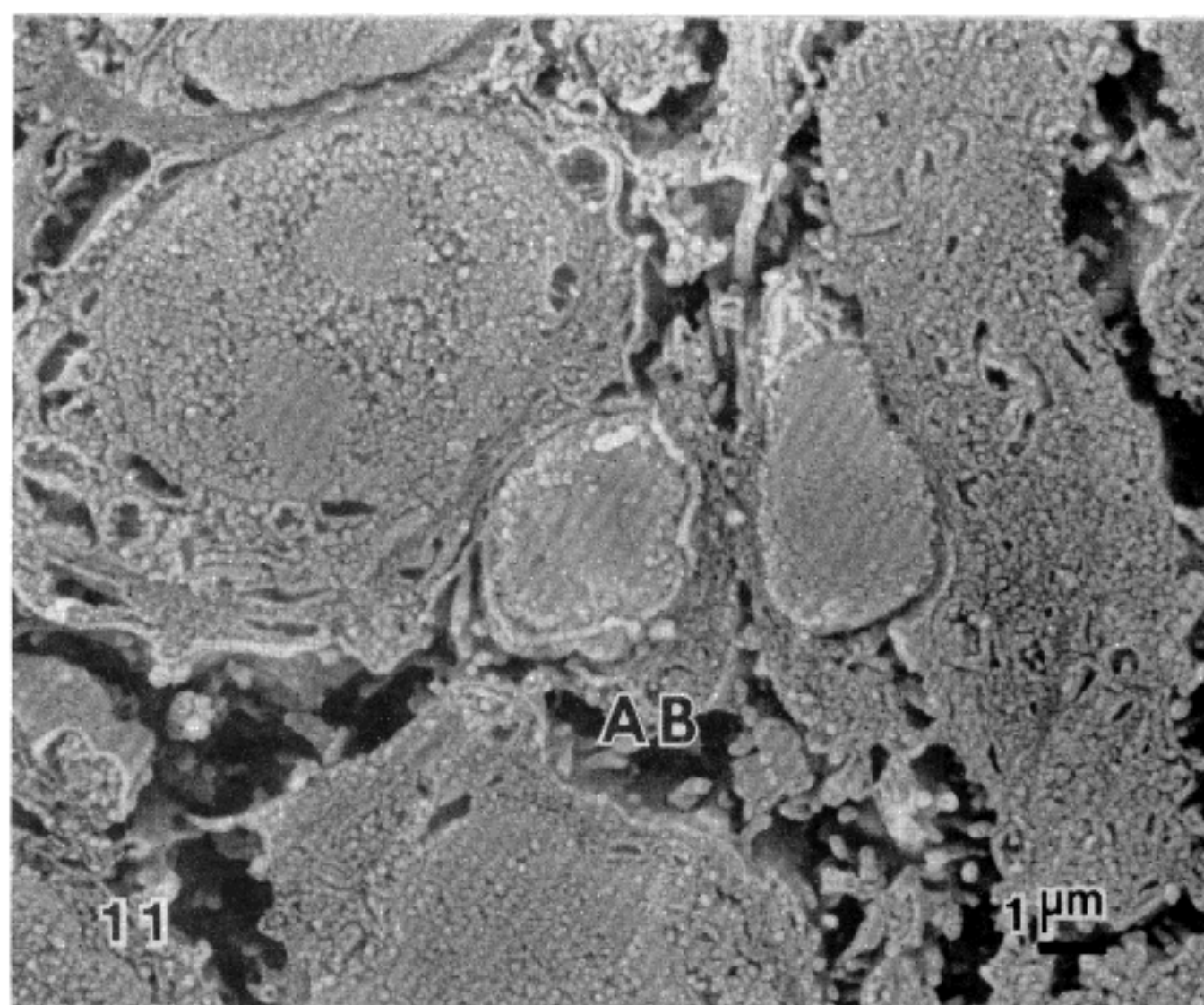
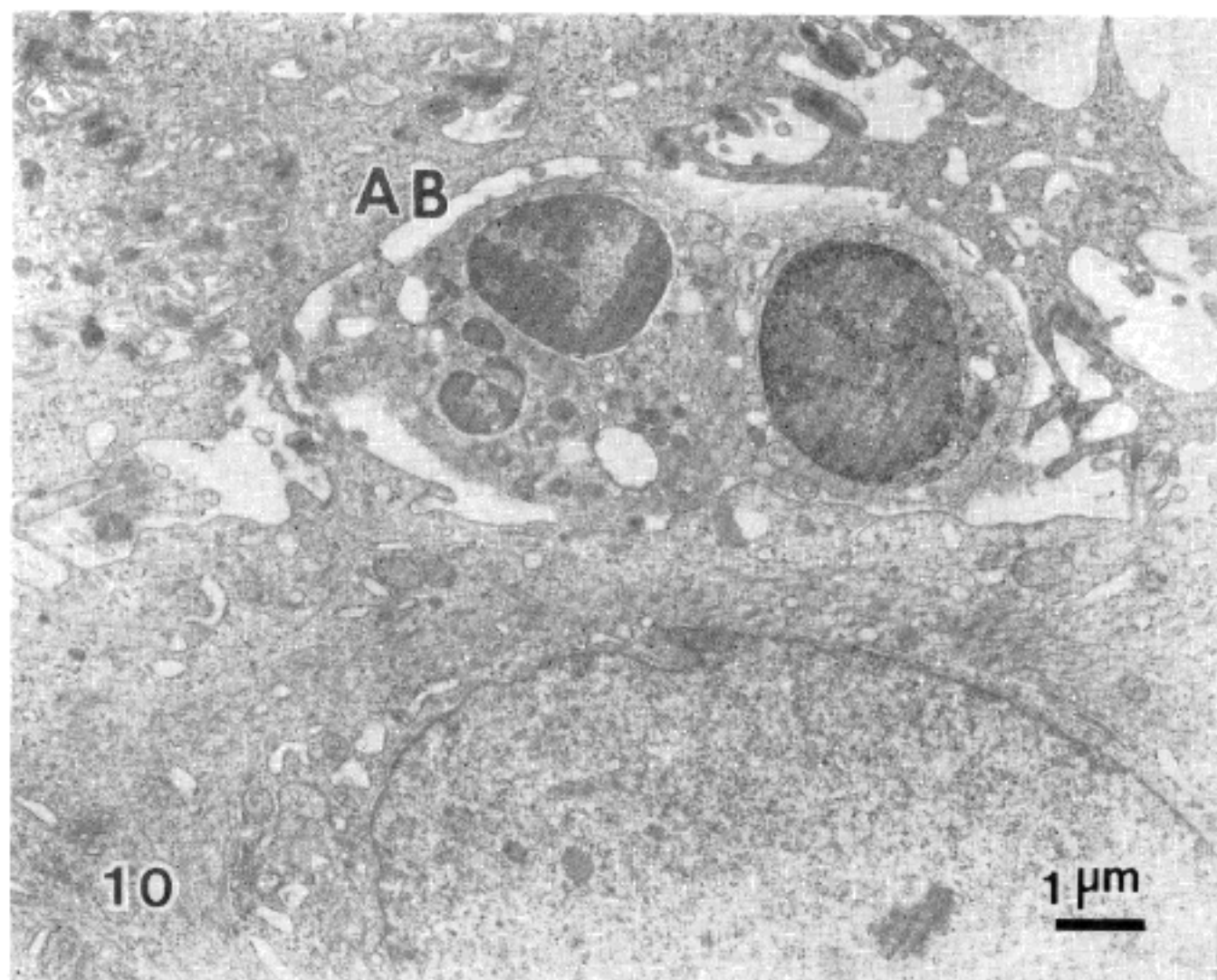
CO : Cytoplasmic organelle

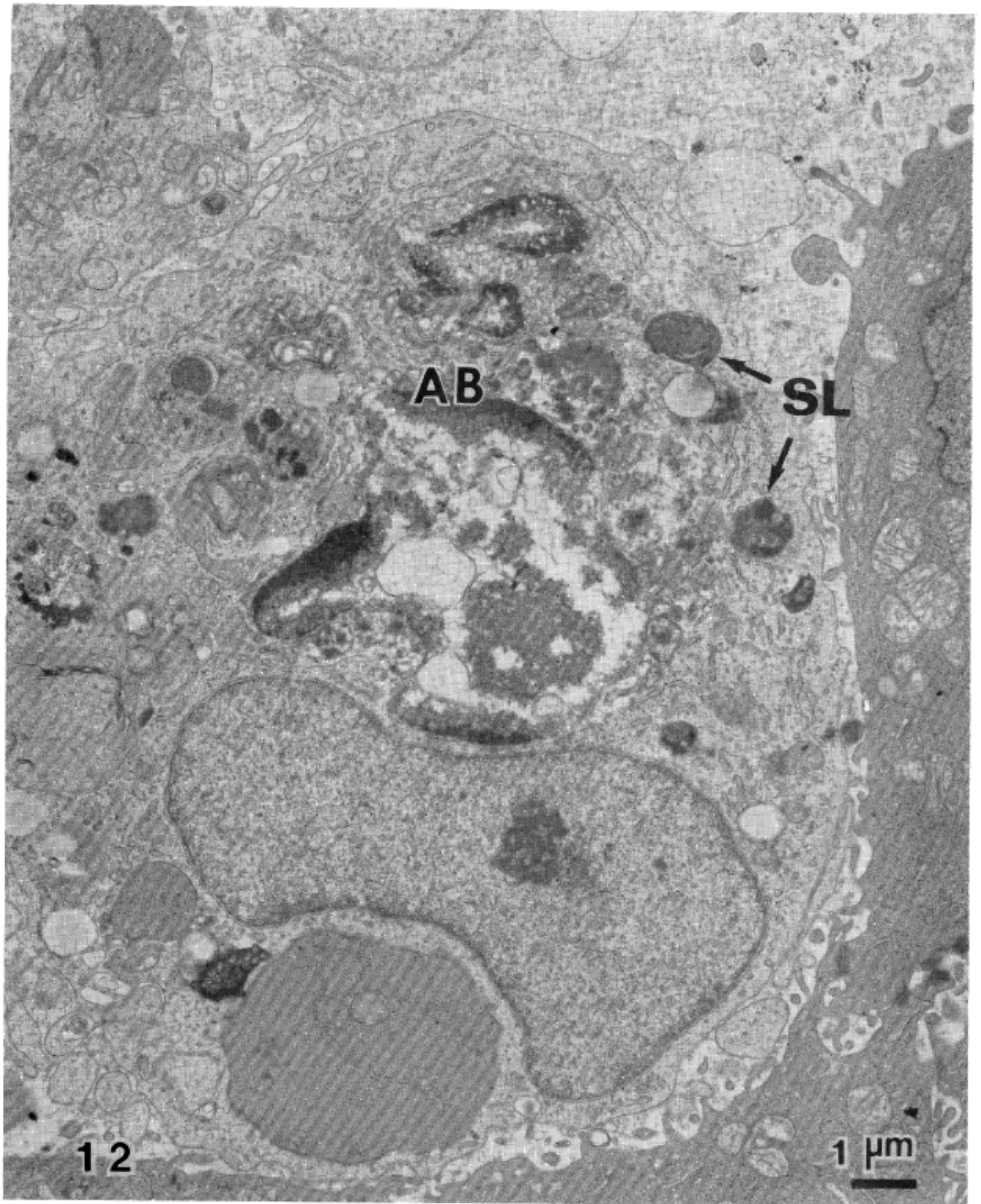
- Fig. 2.** Well differentiated squamous carcinoma of the uterine cervix. A few scattered apoptotic cells contain apoptotic bodies (hematoxylin & eosin, $\times 400$).
- Fig. 3.** Poorly differentiated squamous carcinoma of the uterine cervix. Apoptotic cells and apoptotic bodies are more crowded than those of Fig. 2 and intermingled with atypical mitoses (*) (hematoxylin & eosin, $\times 400$).
- Fig. 4.** Apoptotic cell showing nuclear condensation and fragmentation (hematoxylin & eosin, $\times 1,000$).
- Fig. 5.** Apoptotic bodies phagocytosed by nearby tumor cell (hematoxylin & eosin, $\times 1,000$).
- Fig. 6.** Apoptotic cell shows nuclear condensation and fragmentation with abundant electron-dense heterochromatin (TEM, $\times 13,600$).
- Fig. 7.** Condensed nucleus with irregular contour in the apoptotic cell. The cytoplasmic organelles are morphologically intact (SEM, $\times 11,000$).
- Fig. 8.** Multiple extracellular apoptotic bodies showing condensed nuclei (*). Also noted is an apoptotic body with only cytoplasmic organelles (arrow) (TEM, $\times 8,000$).
- Fig. 9.** Apoptotic cell contains multiple fragmented nuclei but the cytoplasmic organelles are well preserved (SEM, $\times 6,900$).
- Fig. 10.** Well formed membrane-bounded apoptotic bodies, located extracellularly, contain nuclear and cytoplasmic remnants (TEM, $\times 10,200$).
- Fig. 11.** Collapsed extracellular apoptotic bodies between the neoplastic squamous cells (SEM, $\times 8,200$).
- Fig. 12.** Phagocytosis of the apoptotic bodies by nearby tumor cell. Lysosomal digestion of the apoptotic bodies is noted (TEM, $\times 10,000$).
- Fig. 13.** Phagocytosed apoptotic body within phagocytic cell. Note secondary lysosome (*) and residual body (arrow-head) (TEM, $\times 20,000$).
- Fig. 14.** Residual bodies resulted from phagocytosis of the apoptotic bodies are seen (TEM, $\times 20,000$).











자궁경부 상피내 종양의 형태계측학적 연구

한양대학교 의과대학 병리학교실

조 재 동 · 박 병 태 · 이 중 달

서 론

자궁 경부에 가장 빈발하는 편평세포 암종은 오랫동안 점진적으로 여러 단계의 전구 병변을 거쳐 발생하는 것으로 알려지고 있다¹⁾. 이러한 전암성 병변이 이형성증(dysplasia)으로 정의되는데, 이형성증도 그 정도에 따라 경도, 중등도 및 고도로 구분되는 바, 고도의 이형성증은 상피내 편평세포 암종으로 이행하여 마침내 침윤성 암종으로 전전하는 일련의 발암 과정을 밟게 된다^{2,3)}.

이러한 발암 과정에서 관찰되는 각 단계의 변화를 조직학적으로나 세포학적으로 정확히 판정하는 일은 그리 쉬운 일이 아니고, 각 정도의 이형성증 세포들을 서로 감별하고 특히 고도의 이형성증과 상피내 암종세포들을 서로 판별하는데 매우 곤란할 수가 있다⁴⁾.

그래서 Patten⁵⁾은 자궁 경부의 중층 편평상피에서 발생하는 일련의 전암성 병변과 상피내 암종을 통합하여 자궁 경부상피내 종양(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)으로 부르기를 제창하고 그 변화의 정도를 경한 병변으로부터 제 1급으로 하고 가장 심한 제 3급에는 고도의 이형성증과 상피내 암종을 통합하고 있다. 이와같이 통상의 광학 현미경적 검사에서 일상 세포학적 표본으로 여러단계의 자궁경부 상피내 종양 세포를 서로 판별하는데는 상당한 어려움이 있음을 알 수 있다.

각종 이형성증 세포와 상피내암종세포들을 자궁 경부 질 도말표본에서 세포학적으로 진단하는데 필요한 여러 기준을 설정하고 있지만^{6,7)}, 관찰자의 주관적인 판독이므로 그 결과의 재현성이 높지 못한 형편이다^{8,9)}. 최근 재현성을 높이고, 판독의 주관성을 배제하기 위하여 영상분석기를 이용하는 분석 세포학(analytical cytology)이 발달하게 되었다^{10,11)}. 세포의 크기와 형태를 광학 현미경하에서 정확히 계측하고, 정상세포와 병적세

포의 차이를 객관화하는 것이 분석 세포학의 목적이며 그 결과를 자동적으로 전산처리 할 수 있는 기제가 영상 분석기(image analyzer)이다¹²⁾.

저자는 과거 오랫동안 광학 현미경적 검사에서 목적으로 구별하였던 여러 정도의 이형성증 세포와 상피내 암종세포들의 크기의 차이를 영상분석기로 계측하여 각 세포들의 형태 계측학적 차이점을 찾고자 이 연구를 시도 하였다.

연구재료 및 방법

1. 재 료

세포학적 진단을 목적으로 산부인과 외래에서 통상적으로 실시한 자궁경부 질 도말 표본(cervico-vaginal smear)중 자궁 경부의 상피에서 발생한 경도, 중등도 및 고도 이형성증과 상피내 편평세포 암종으로 진단된 표본중 생검이나 수술로 진단이 확진된 각 5예를 연구재료로 선정하였다. 상피내 편평세포 암종은 소세포형, 대세포형 및 각화형으로 구분하였다. 이들 연구재료는 도말 직후 95% ethanol에 30분 가량 고정한 후 통상적인 방법으로 Papanicolaou 염색을 실시하였다.

대조표본으로는 이상세포가 없는 5예의 자궁경부-질 도말 표본에서 자궁경부의 편평상피로부터 탈락한 표층 세포, 중간세포 및 방기저 세포를 선택하였다.

2. 방 법

Kontron IBAS-1 반자동 영상 분석기(semiautomated image analyzer, Zeiss, Germany)를 사용하여, 연구재료 및 대조군 표본에 도말된 대상 세포들을 계측하였다. 한 도말표본당 50개의 대상세포를 측정하였는데, 측정 변수로서 핵과 세포질의 최대 지름(D-max)과 평면적(area)을 각각 측정하였고, 그 평균치와 표준편차