

## 위 선암종내 Neuron Specific Enolase 양성 세포의 발현 양상

서울대학교 의과대학 병리학교실 및 부속암연구소

최 기 영 · 김 용 일

### Immunohistochemical Expression of Neuron Specific Enolase-Positive Cells in Gastric Adenocarcinomas

Ghee Young Choe, M.D. and Yong Il Kim, M.D.

*Department of Pathology and Cancer Research Institute,  
Seoul National University College of Medicine*

In order to correlate the frequency of neuroendocrine cells with pathologic parameters in gastric adenocarcinomas, immunoperoxidase staining for neuron specific enolase was performed on 250 consecutive cases of surgically resected gastric adenocarcinomas(201 advanced gastric carcinomas[AGCs], 49 early gastric carcinomas[EGCs]) and 2 cases of gastric carcinoid tumors.

Of the 252 cases of gastric carcinomas, pure exocrine carcinomas were 174 cases(69%), pure neuroendocrine(NE) carcinomas 2 cases(0.8%), mixed exocrine and NE carcinomas 32 cases(12.7%), and exocrine carcinomas with occasional NE cells 44 cases(17.5%). The frequency of gastric carcinomas with NSE-positive cells increased with age proportionally. NSE positivity was higher in polypoid or fungating tumors(AGC Borrmann type I, II, EGC I and IIa) than ulcerative or scirrhous tumors. There was no significant difference in frequency of NSE-positive cells by histologic type and differentiation of gastric adenocarcinomas.

The above findings reflect that most gastric carcinomas are heterogeneous in their constituents and suggest that both exocrine and neuroendocrine carcinomas are the expression of the extreme ends of the exocrine-endocrine differentiation spectrum based on the assumption that they develop from the pluripotent stem cells differentiating into both exocrine and endocrine carcinomas.

**Key Words:** Adenocarcinoma, Stomach, Neuron specific enolase, Neuroendocrine differentiation

### 서 론

접 수: 1990년 11월 27일, 게재승인: 1991년 4월 22일  
주 소: 서울특별시 종로구 연건동 28, 우편번호: 110-744  
서울대학교 의과대학 병리학교실, 최 기 영

위와 대장의 선암종내 장크롬친화성 세포의 출현에  
관한 연구는 1927년 Hamperl 등의 첫보고<sup>1)</sup> 이후 다

각적으로 검토되어 왔으며, 저자에 따라 선암종내 내분비 세포의 출현에 대해, 미만성 기은성세포종(diffuse argentaffinoma), 기은성세포 선암종(argentaffin cell adenocarcinoma), 악성 신경내분비세포종(malignant neuroendocrinoma), 비정형 유암종(atypical carcinoid), amphicrine carcinoma 등의 다양한 명칭으로 호칭되어 왔다<sup>1-15)</sup>. 최근에는 선암종내 내분비 세포의 출현에 대한 연구 방법으로서 통상 조직화학적 방법인 은착색법 이외에 다양한 항체를 이용한 면역조직화학적 기법을 활용함으로써 이들세포의 출현을 보다 정확하게 관찰할 수 있게 됨에 따라 기왕의 연구성적에 대한 재검토가 요청되기에 이르렀다. 특히 거의 모든 내분비 세포에 양성 반응을 보이는 신경내분비 표지자 중 하나인 신경특이 에놀레이즈(neuron specific enolase; NSE)를 이용한 면역조직화학적 기법을 활용함으로써 위장관 내분비세포의 출현 양상을 개관할 수 있게 되었다.

한편 위암종은 한국인에서 가장 고율로 관찰되고 있는 악성종양으로서 이들 종양의 조직기원 및 생물학적 특성을 규명하기 위하여 각종 병리학적 지표를 개발하고 적용시켜 왔으나, 임상 병리학적 해석에 크게 도움을 주지 못하고 있다. 특히 미분화성 위암종의 일부가 통상의 위 점막상피 기원이 아니고 신경내분비성 암종으로 밝혀짐에 따라 기왕의 광학현미경적 관독에 의존한 위암종의 조직기원 해석에 대한 재반성을 요하게 되었다. 본 관찰은 위암종의 성분으로서 출현하는 신경내분비세포의 발현양상을 조사함으로써 각종 병리학적 지표와의 상관관계를 밝히고 조직기원상의 의의를 추구하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 연구재료

연구 재료로는 1988년 1월부터 1988년 6월까지 만 6개월간 서울대학교 병원에서 절제되어 위선암종 및 유암종으로 확진된 252예(진행암 201예, 조기위암 49예, 유암종 2예)의 연속 위검체를 대상으로 하였다.

### 2. 연구방법

1) 병리조직학적 검색: 절제된 위 검체를 대만쪽 혹은 소만쪽을 따라 절개한 후 위를 펼쳐 코르크 판에

핀으로 박은 다음, 10% 중성 포르말린 용액에 24시간 고정하였다. 진행성 위암의 경우 종괴의 중심부 및 소만쪽을 따라 종으로 0.4cm 두께의 조직을 한줄 내지 두줄 절제한 후, 3cm 길이로 나누어 표본을 채취하였다. 조기 위암의 경우 병변 전부와 주위조직을 포함하는 부위를 위치별로 표본 제작하여 김, 이의 방법<sup>16)</sup>에 따라 조직구축학적 검색을 시행하였다. 각각의 조직은 통상의 조직 표본 제작법에 따라 탈수, 투명, 침투의 과정을 거친 후, 파라핀에 포매하고 4~5 $\mu$ m의 두께로 박절한 후 Harris hematoxylin-eosin 염색을 하였고, 광학현미경하에서 검경하였다.

위 선암종은 세계보건기구(WHO)의 분류법<sup>17)</sup>에 따라 분류하였다.

2) 면역조직화학적 검색: Avidin과 biotin 사이의 강한 결합력을 이용한 avidin-biotin-peroxidase complex(ABC)에 의하여 immunoperoxidase 염색법으로 NSE 양성 세포를 염색하였다. 각 증례당 병리조직학적 검색상 조직 보존상태가 양호하면서도 종양을 대변할 수 있는 가장 대표적인 파라핀 포매 블록(paraffin block) 하나를 선택하였으며, 하나의 암종이 서로 다른 분화상을 보이거나 신경내분비 암종이 강력히 의심되는 경우에는 둘 내지 네개의 파라핀 포매블록을 추가하였다.

선택된 파라핀 포매블록을 4~5 $\mu$ m의 두께로 박절하고 60°C 이하의 온도에서 건조시킨 후 xylene에서 탈-파라핀 과정을 거친 다음 100%, 90%, 80%, 70% 에탄올의 순서대로 1분씩 방치하여 합수시키고, 흐르는 수돗물에 수세하였다. 이들을 메탄올-과산화수소 용액(100% methanol 200 ml + 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5 ml)에 20분간 처치하여 세포내의 내인성 과산화 효소의 활성화를 저지시킨 다음 인산 완충 식염수(PBS)로 3회 수세하였다. 비특이적 배경 염색(nonspecific background staining)을 방지하기 위하여 정상 산양 혈청(Zymed Laboratories)을 가한 후 실온에서 20분간 방치하였다. 일차 항체인 rabbit anti-human NSE(1:200 희석액, Bio Genex, California)를 도포하여 4°C 냉장고에서 하룻밤 동안 방치하였고, 다음날 PBS로 3회 수세하였다. 이차항체 혹은 연결항체(linking antibody)로는 biotinylated goat anti-rabbit immunoglobulin(Bio Genex)을 사용하여 20분간 처치한 후, PBS로 3회 수세하였다. Peroxi-

dase labelled streptavidin(Bio Genex)을 20분간 도포하여 표시(label)한 후, PBS로 3회 수세하였다. 기질인 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-aminoethyl carbazole(AEC, Zymed Laboratories) 용액을 도포후 20분 동안 처치한 후, PBS로 3회 수세하였다. Mayer's hematoxylin으로 10분 동안 처치하여 대조염색한 후, PBS와 흐르는 수돗물로 수세하였다. 80% glycerol gelatin으로 cover glass를 glass slide에 견고히 부착시켜 영구 보존이 가능토록 하였다.

**3) NSE 양성 세포 및 조직의 감별:** 암종내 NSE-양성 및 음성 세포를 판정하는데 있어서는 암종주변의 비종양성 점막 상피에 나타난 위점막 내분비세포를 기준으로 삼았다. 즉 정상 내분비 세포 만큼의 발색 강도를 나타낸 경우 NSE-양성세포로 판정하였다. 주변의 비종양성 점막이 포함되지 않은 경우에는 양성 대조군으로 사용한 위의 유암종(classical carcinoid)의 염색도를 기준으로 하였다.

NSE-양성 신경세포는 크기가 크고 특징적인 형태를 가지고 있기 때문에 구분하는데 어려움이 없었으며, 신경섬유 또한 파도치는 듯한 굴곡이 있는 선형구조로 되어 있어서 종양세포와의 감별에 큰 어려움은 없었다. 그러나 저분화 선암종이 미만성으로 점막하층에 침윤하고 있었던 증례에서는 점막하층에 정상적으로 존재하는 신경섬유가 단면으로 잘려 NSE-양성 종양세포와의 감별이 필요하였다. 문제의 세포가 크기는 작으면서 원형질막에만 발색반응이 나타나고 세포질이 음성으로 반응하며 핵이 보이지 않을 경우에는 신경섬유의 단면을 나타내고 있다고 판정하였다. 대부분 이러한 세포의 주변에서는 특징적인 굴곡을 갖는 신경섬유가 가까이 관찰되었다.

**4) NSE 양성 세포 분포양상에 따른 위암종의 구분:** 선암종내 NSE-양성세포가 나타나는 양상에 따라 ① 완전 외분비암종(pure exocrine carcinoma), ② 완전 신경내분비암종(pure neuroendocrine[NE] carcinoma), ③ 혼합형암종(mixed exocrine and NE carcinoma), ④ 소수의 내분비세포를 함유한 외분비암종(exocrine carcinoma with occasional NE cells)으로 구분하였다<sup>18)</sup>. 즉 NSE-양성 세포가 포함되지 않은 선암종을 완전 외분비암종으로 구분하였고, H & E 염색상 유암종(비전형적 유암종 포함)임을 예측할 수 있으며 종양을 구성하는 거의 모든 세

포가 NSE-양성 세포로 구성된 경우에 한하여 완전 신경내분비암종으로 판정하였다. 종양의 대부분이 NSE-양성을 보이더라도, 유암종의 조직학적 특성이 없거나 확실한 선암종의 조직소견을 함유하고 있을 때는 혼합형암종으로 분류하였다. 강확대(×400)에서 NSE-양성 세포가 1개 내지 4개 관찰되면 소수의 내분비 세포를 함유한 외분비암종으로 분류하였다. 소수의 내분비 세포를 함유한 외분비암종에서는 대부분의 NSE-양성세포가 종양내에 단독으로 흩어져 있었지만, 혼합형암종에서는 강확대에서 10개 이상의 양성세포가 모여있는 부분이 항상 존재하였고 대부분 반점상(patchy) 또는 미만성(diffuse)으로 양성세포가 분포하였다.

## 결 과

NSE에 양성으로 반응한 정상 내분비 세포들은 주로 위선 소와(gastric foveola)와 고유선(proper gland)의 경계부에 단독으로 혹은 소집단을 이루어 존재하였으며, 그 형태는 크게 세가지로 구분되었다. 첫째 유형은 개방형 세포(open cell)로서 피라미드형, 삼각형, 플라스크형 등 다양한 췌기형 세포들이 위선의 관강(lumen)과 연결되어 있었다(Fig. 1 A, B). 둘째 유형은 폐쇄형 세포(closed cell)로서 방추형의 세포가 관강과의 연결없이 상피 세포와 직각으로, 기저막과 상피 세포 사이에 놓여 있었다(Fig. 1A). 셋째 유형은 H & E 염색상 세포질이 투명하게 보이는 투명 세포(clear cell)에 해당하는 세포들로서 둥근 세포 모양과 세포 중심에 위치하는 소낭성의(vesicular) 핵이 특징이었다(Fig. 1B).

암종내 NSE-양성 세포 역시 원주형, 입방형, 원형, 난형, 방추형, 췌기형 등 다양한 형태를 보였으며, 대부분 세포질에 과립상으로 발색반응이 나타났으나, 일부에서는 세포질이 균등하게 양성으로 나타나기도 했다. 간혹 핵막에만 발색반응이 나타나기도 했는데, 이럴 때는 음성으로 판정하였다.

고분화 및 중분화 관상 선암종에서 NSE-양성 세포와 음성 세포는 대부분 원주형 또는 입방형이었고 이들간의 형태학적 차이는 관찰할 수 없었다. NSE-양성 세포의 대부분에서 세포질내에 균등하게 분포된 갈색 과립을 보이거나 세포질이 무과립상으로 균등하게 갈

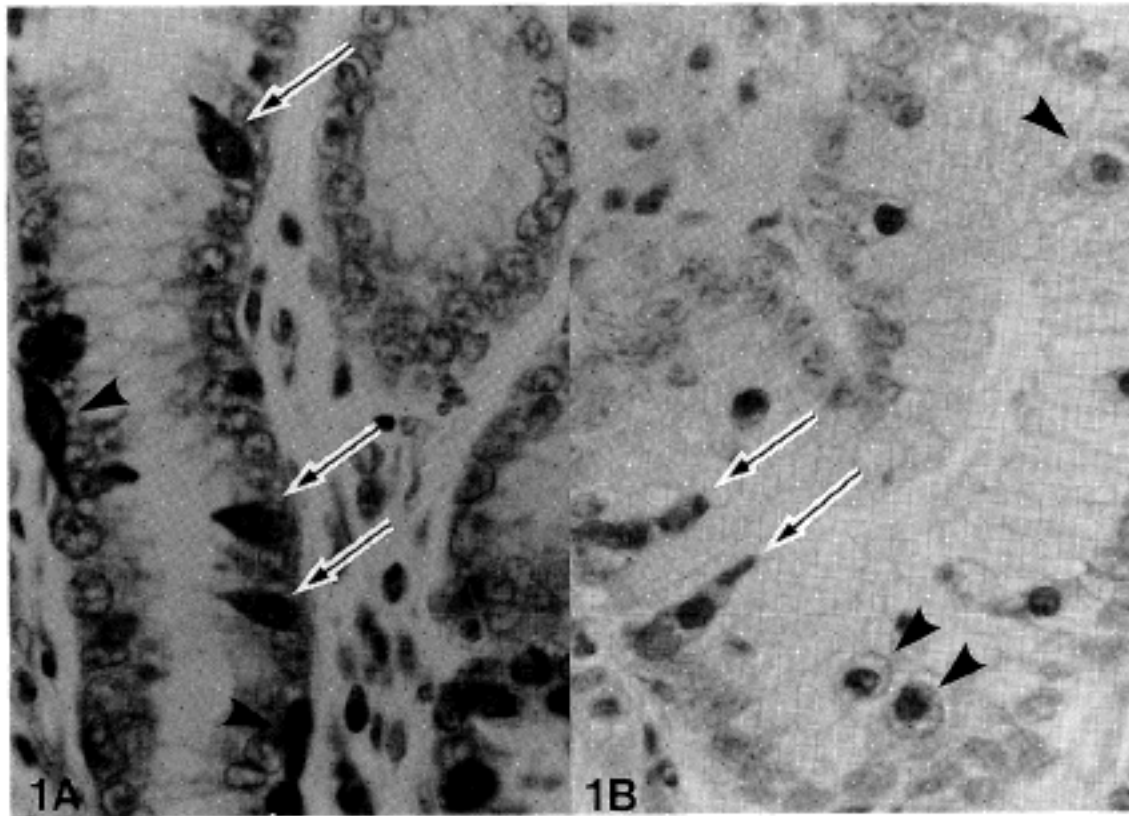


Fig. 1A. Normal gastric foveola and proper gland show wedge-shaped "open cells"(arrow) and spindle-shaped "closed cells"(arrow head)(ABC stain for NSE).

Fig. 1B. Normal gastric mucosa shows endocrine cells in a form of "open cells"(arrow) and "clear cells"(arrow head)(ABC stain for NSE).

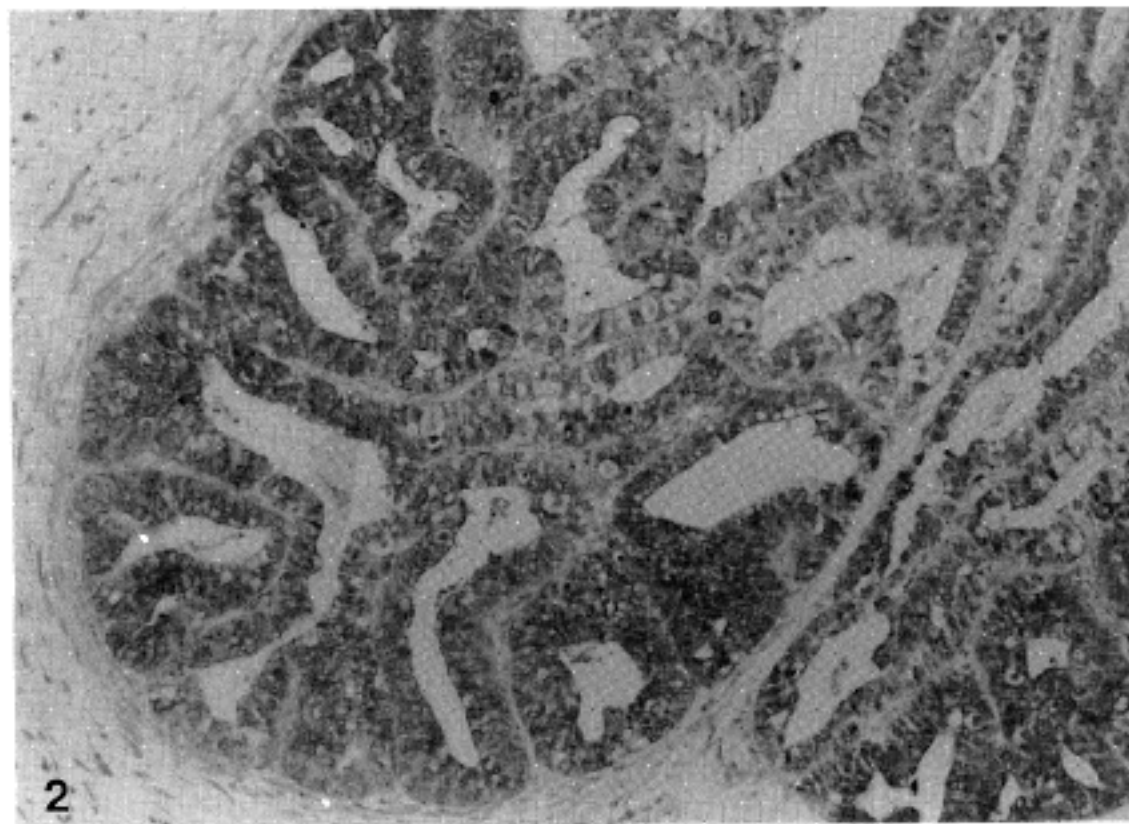


Fig. 2. Well differentiated tubular adenocarcinoma infiltrating the proper muscle layer; mixed exocrine and NE carcinoma(ABC stain for NSE).

색으로 나타났다(Fig. 2). 때로는, 발색반응이 세포질의 한쪽으로 치우쳐 나타나는 극성이 관찰되기도 하였다. 저분화 선암종내 NSE-양성 세포는 난형, 방추형, 왜기형등 다양한 형태를 띄고 있었으며 그 크기도 다양하였다(Fig. 3). 점액 선암종내 점액에서는 발색반응이 나타나지 않았으며, 점액의 양이 적어서 상대적으로 세포수가 높은 곳에서 NSE-양성 세포의 출현이 빈번하였다(Fig. 4). 인환 세포암종내 NSE-양성 세포

의 분포를 관찰하면, 점액을 풍부히 함유하여 전형적인 인환 세포의 형태를 보이는 큰 세포내에서는 NSE의 발색 반응을 관찰할 수 없었으며, 핵이 아직 세포의 가운데 위치하고 크기가 상대적으로 작은 미숙 인환세포에서 NSE-양성 반응을 찾아 볼 수 있었다(Fig. 5).

유암종 2예에서는 거의 모든 종양세포가 NSE-양성을 보였으며, 세포질내에 균등하게 퍼진 과립상이거나

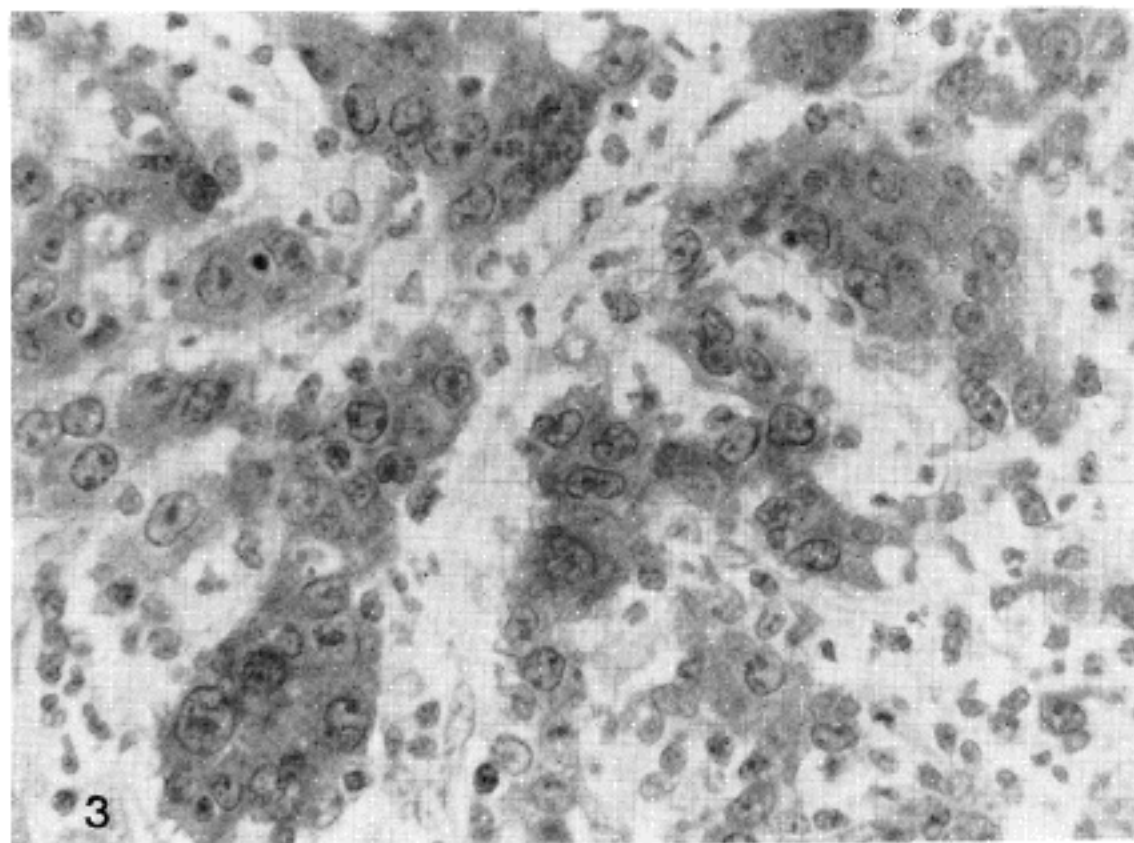


Fig. 3. Poorly differentiated adenocarcinoma; mixed exocrine and NE carcinoma(ABC stain for NSE).

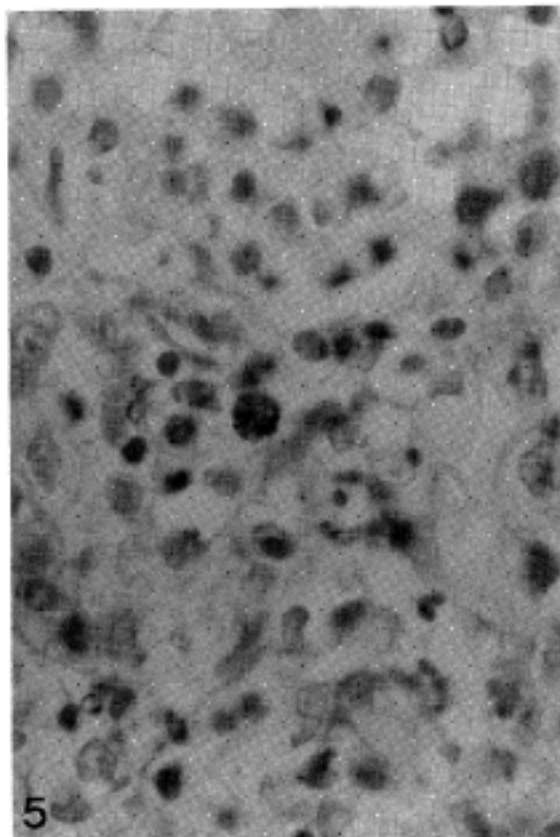
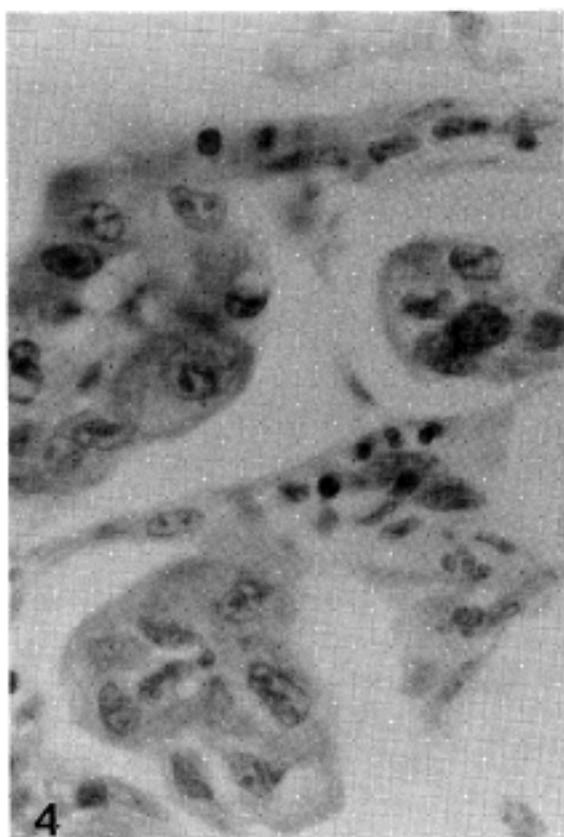


Fig. 4. Mucinous adenocarcinoma; mixed exocrine and NE carcinoma(ABC stain for NSE).

Fig. 5. Early gastric carcinoma; signet ring cell carcinoma; exocrine carcinoma with occasional NE cells(ABC stain for NSE).

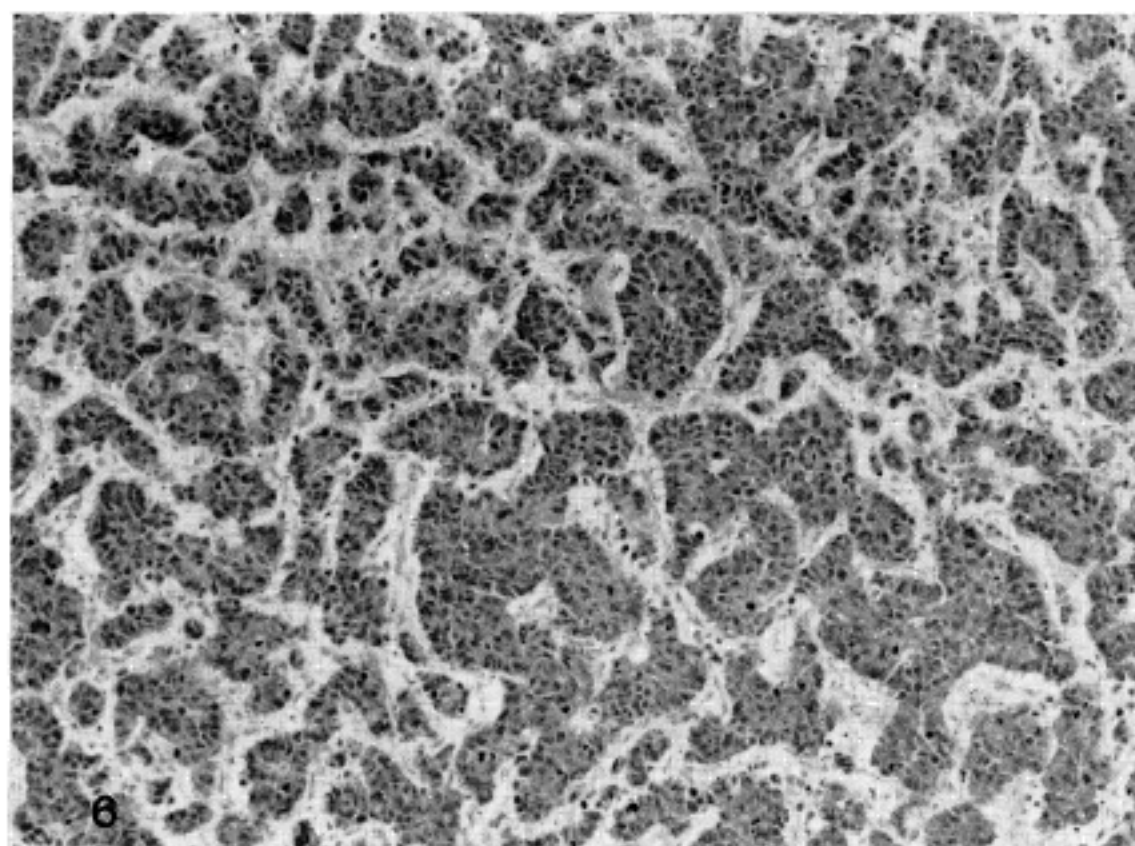
균일한 발색반응을 보이는 형태를 띠었다(Fig. 6). 비전형적 유암종내에서 유사 분열을 보이는 세포도 NSE-양성으로 나타났다.

NSE-양성 세포의 출현양상에 따라 위검체 252예를 분류하여 보면 Table 1과 같다. 위선암종 중 내분비 세포의 발현을 보이는 비율은 78/252예(31%)이었으나 완전 외분비암종(174예; 69%)과 소수의 내분비 세포를 함유한 외분비암종(44예; 17.5%)이 거의 대부

분을 차지하였다.

#### 1. 성별에 따른 NSE-양성 세포의 출현빈도

남자 163예 및 여자 89예에 대한 NSE-양성 세포의 출현 빈도를 조사하면 Table 2과 같다. 남자에서는 48예(29.4%) 및 여자에서는 30예(33.7%)에서 NSE-양성세포가 발현되었으며 이들 간의 유의한 통계적 차이는 없었다.



**Fig. 6.** Pure neuroendocrine carcinoma(atypical carcinoid tumor) reveals neoplastic cells, nearly all of which are NSE-positive(ABC stain for NSE).

**Table 1.** Classification of 252 gastric carcinomas by expression of NSE-positive cells

Type	No. of cases	%
Pure exocrine carcinoma	174	69.0%
Exocrine carcinoma with occasional NE cells	44	17.5%
Mixed exocrine and NE carcinoma	32	12.7%
Pure neuroendocrine(NE) carcinoma	2	0.8%
<b>Total</b>	<b>252</b>	

**Table 2.** Frequency of gastric carcinomas with NSE-positive cells according to sex

Sex	No.	Exocrine(%)	Occasional(%)	Mixed(%)	Endocrine(%)	NE diff.*(%)
Male	163	115(70.6%)	24(14.7%)	22(13.5%)	2(1.2%)	48(29.4%)
Female	89	59(66.3%)	20(22.5%)	10(11.2%)	0(0 %)	30(33.7%)

\* Exocrine: Pure exocrine carcinoma

Occasional: Exocrine carcinoma with occasional NE cells

Mixed: Mixed exocrine and NE carcinoma

Endocrine: Pure neuroendocrine carcinoma

NE diff.: Neuroendocrine differentiation

## 2. 연령에 따른 NSE-양성 세포의 출현빈도

선암종내 NSE-양성 세포가 발현하는 빈도를 검색 당시의 연령군별로 조사하면 Table 3과 같다. 나이의 증가에 따라 NSE-양성 세포의 출현 빈도는 증가하였

으며( $p < 0.05$ ), 선암종내 NSE-양성 세포 출현 빈도를 성별과 나이에 따라 분석하였을 때에도 남, 녀 모두에서 나이가 증가할수록 양성 세포 발현 빈도가 증가하였다( $p < 0.05$ )(Table 4).

**Table 3.** Frequency of gastric carcinomas with NSE-positive cells according to age group

Age	No.	Exocrine(%)	Occasional(%)	Mixed(%)	Endocrine(%)	NE diff.(%)
~30	9	7(77.8)	2(22.2)	0	0	2(22.2)
31~40	27	21(77.8)	4(14.8)	1(3.7)	1(3.7)	6(22.2)
41~50	55	43(77.2)	10(18.2)	2(3.6)	0	12(21.8)
51~60	88	58(65.9)	16(18.2)	13(14.8)	1(1.1)	30(34.0)
61~70	59	37(62.7)	11(18.6)	11(18.6)	0	22(37.3)
71~	14	8(57.1)	1(7.1)	5(35.7)	0	6(42.9)

**Table 4.** Frequency of gastric carcinomas with NSE-positive cells according to age and sex

Age	Male		Female		Total	
	No.	positive(%)	No.	positive(%)	No.	positive(%)
~30	3	1(33.3)	6	1(16.7)	9	2(22.2)
31~40	15	4(26.7)	12	2(16.7)	27	6(22.2)
41~50	38	7(18.4)	17	5(29.4)	55	12(21.8)
51~60	66	22(33.3)	22	8(36.3)	88	30(34.0)
61~70	33	11(33.3)	26	11(42.3)	59	22(37.3)
71~	8	3(37.5)	6	3(50)	14	6(42.9)

**Table 5.** Distribution patterns of gastric carcinomas with NSE-positive cells according to site of the tumor

Site	No.	Exocrine(%)	Occasional(%)	Mixed(%)	Endo(%)	NE diff.(%)
Antrum	137	95(69.3)	24(17.5)	18(13.1)	0	42(30.7)
Antrum & Body	28	15(53.6)	9(32.1)	3(10.7)	1(3.6)	13(46.4)
Body	61	45(73.8)	8(13.1)	7(11.5)	1(1.6)	16(26.2)
Body & cardia	2	2(100)	0	0	0	0(0)
Body & fundus	4	2(50)	2(50)	0	0	2(50)
Fundus	9	5(55.6)	0	4(44.4)	0	4(44.4)
Cardia	8	7(87.5)	1(12.5)	0	0	1(12.5)
Whole stomach	3	3(100)	0	0	0	0(0)

### 3. 위암종의 발생위치에 따른 NSE-양성 세포의 출현빈도

위암종의 발생위치에 따른 NSE-양성 세포의 출현 빈도는 Table 5와 같으며, 위 전역을 침범하거나 분 문부에 생긴 선암종에서는 NSE-양성 세포의 출현이 저조하였으나 그 검체수량이 적기 때문에 통계학적 의미를 부여할 수 없었으며, 발생위치에 따른 NSE-양성 세포의 출현 빈도 차이는 없었다.

### 4. 위 선암종의 육안적 형태에 따른 NSE-양성 세포의 출현 빈도

Table 6과 같이, 진행성 위암 제 I, II형 및 조기위 암 I, IIa형에서 높은 NSE-양성율을 보임으로써, 위 선암종내 NSE-양성 세포 발현율은 용기형 및 팽창성 성장을 보이는 위선암종에서 보다 높게 나타났다 ( $p < 0.05$ ).

**Table 6.** Frequency of gastric carcinomas with NSE-positive cells according to gross type of the tumor

Gross type	No.	Exocrine(%)	Occasional(%)	Mixed(%)	Endo(%)	NE diff.(%)	
AGC	I	6	4(66.7)	0	1(16.7)	1(16.7)	2(33.3)
	II	51	26(51)	8(15.7)	16(31.4)	1( 2.0)	25(49.0)
	III	117	86(73.5)	18(15.4)	13(11.1)	0	31(26.5)
	IV	29	23(79.3)	6(20.7)	0	0	6(20.7)
EGC	I	3	0	0	1(33.3)	0	1(33.3)
	IIa	5	3(60)	2(40)	0	0	2(40)
	IIa+IIc	3	3(100)	0	0	0	0(0)
	IIb+IIa	1	1(100)	0	0	0	0(0)
	IIc	30	21(70)	8(26.7)	1( 3.3)	0	9(30)
	IIc+III	7	5(71.4)	2(28.6)	0	0	2(28.6)

**Table 7.** Frequency of gastric adenocarcinomas with NSE-positive cells according to histologic type and differentiation

Histologic type	No.	Exocrine(%)	Occasional(%)	Mixed(%)	NE diff.(%)
Papillary	2	2(100)	0	0	0(0)
Tubular, W/D	45	29(64.4)	7(15.6)	9(20)	16(35.6)
Tubular, M/D	57	36(63.2)	10(17.5)	11(19.3)	21(36.8)
P/D adenoca.	106	75(70.8)	19(17.9)	12(11.3)	31(29.2)
Mucinous, W/D	6	5(83.3)	0	1(16.7)	1(16.7)
Nucinous, P/D	6	4(66.7)	2(33.3)	0	2(33.3)
Signet ring cell	28	23(82.1)	5(17.9)	0	5(17.9)

**5. 조직학적 유형 및 분화정도에 따른 NSE-양성 세포의 출현빈도**

Table 7과 같이 선암종의 분화가 좋을수록 NSE-양성 세포가 빈번히 출현하는 경향을 보였으나 통계학적인 유의성은 없었다. 또한 점액을 많이 함유한 위선암종은 대체로 NSE-양성 세포의 발현이 저조하였으나 통계학적인 유의성은 찾을 수 없었다. 유두상 선암종 2예 중 NSE-양성 세포가 발현된 예는 없었다.

NSE-양성 세포가 미만성으로 다수 발현된 혼합형 암종 32예를 조직학적 유형으로 분석하면, 위선암종은 분화가 좋을수록 그리고 점액의 함유가 적을수록 높은 내분비 세포 발현율을 보였으나, 검체의 양이 적어서인지 통계학적 유의성을 보이지는 않았다(Table 7).

**고 찰**

소화기관내 선암종에서 기은성 및 호은성 세포의 출현에 관한 연구는 1927년 Hamperl등이 20예의 위선암종 중 1예(5%)에서 다량의 기은성 세포를 보고<sup>1)</sup>한 이후 많은 연구가 있다. 저자에 따라, 은착색법으로는 1.7%에서 15.2%까지의 장크롬친화성 세포가, 면역조직화학적 방법으로는 26.5% 및 60%의 신경내분비세포가 위선암종에서 발현한다고 보고하였다(Table 8)<sup>3,19-26)</sup>. 이와같은 위선암종 내 내분비 세포의 발현 빈도의 상당한 차이는 내분비 세포를 증명하는 염색방법의 차이, 대상 검체의 수량 차이 및 검색 대상이 된 조직절편의 크기와 수효의 차이 때문으로 짐작된다.



**Table 8.** Frequency of neuroendocrine cells in the gastric adenocarcinoma

Author	Method	No. of cases	Result	%
Hamperl, 1927	Silver	20	1 argentaffin	5 %
Honma, 1957	Silver	120	2 argentaffin	1.7%
Azzopardi, 1963	Silver	100	13 argyrophil 8 argentaffin	13 % 8 %
Kubo, 1971	Silver	382	12 argentaffin	3.1%
Tahara, 1975	Silver	159	11 argyrophil	6.9%
Lei, 1983	PAP	15	8 neuroendocrine	60 %
Choi, 1985	ABC	34	9 neuroendocrine	26.5%
Lee, 1986	Silver	282	43 argyrophil 5 argentaffin	15.2% 1.8%
Watanabe, 1982	Silver	108 Adenomas	46 argentaffin	42.6%

소화관의 내분비세포를 연구하는 방법으로는 조직화학적인 방법, 면역형광법, 전자현미경 등이 이용되어 왔다. 근래 개발된 면역조직화학적 기법은 Sternberger 등<sup>27)</sup>이 PAP를 개발한 이후부터 광범위하게 이용되고 있으며, 최근에는 예민도가 더 높은 ABC에 의한 면역조직화학적 방법<sup>28)</sup>이 널리 쓰이고 있다. 이들 방법은 면역형광법과는 달리 통상의 방법으로 제작된 파라핀 절편에도 적용할 수 있고, 대조염색을 통하여 H & E 염색표본과 비교할 수 있으며, 장기간 보존이 가능하다는 장점이 있다.

소화관을 비롯한 모든 조직내 내분비 세포에 대한 면역조직화학적 기법에 이용되는 일차 항체로는 여러 가지가 발표되어 있는데, 일상 신경내분비 표지자(general neuroendocrine marker)로 NSE, chromogranin A, protein gene product 9.5, 7B2, neurofilament triplet proteins, synaptophysin 등이 알려져 있으며<sup>29)</sup>, serotonin, gastrin, glucagon, insulin, somatostatin, pancreatic polypeptide(PP), substance P, VIP 등의 생체합성 아민(biogenic amine) 및 neurohormonal peptide들은 특정 내분비 세포 혹은 내분비 종양이 가지고 있는 생성물의 특성을 알기 위해 이용되고 있다<sup>30)</sup>.

NSE는 enolase 중 가장 산성이 강한 형태로 소의 뇌에서 처음 추출된 단백질군의 하나이다<sup>31)</sup>. 그 후 NSE가 모든 종류의 정상 신경내분비 세포에 존재하며<sup>32,33)</sup>, 또한 이들 내분비 세포에서 생긴 종양에서 NSE가 발현된다는 것이 알려졌다<sup>34)</sup>. NSE는 세포질

단백질(cytosolic protein)이기 때문에 신경분비성 과립의 저장양에 상관없이 탈과립상태의 종양세포에서도 발현될 수 있다고 한다<sup>29,35)</sup>.

NSE가 통상 이용되는 신경내분비 표지자 중 제일 먼저 알려진 것이기는 하지만 여전히 가장 중요한 내분비 표지자라는 점이 인정되고 있으며<sup>29)</sup> 본 연구에서도 위점막의 정상 내분비 세포, 고유근층의 신경세포 및 신경 섬유에만 특이하게 양성 반응을 보였음에 비추어 볼때, 적어도 위장관의 내분비 세포 및 원발성 위장관 상피암내 신경내분비성 분화를 검색하는데 NSE는 매우 유용하며 또한 신빙성이 높다고 사료된다. 그러나 보다 정확한 신경내분비성 분화를 관찰하기 위해서는 다른 신경내분비 표지자들과 병행한 연구가 필요하겠다.

본 연구에서 고분화 및 중분화 관상 선암종이 각각 16/29예(35.6%), 21/57예(36.8%)의 NSE 양성율을 보인 반면 저분화 선암종은 31/106예(29.2%)의 NSE 양성 세포 발현율을 보여 분화가 좋을수록 내분비 세포가 빈번하게 출현하였지만, 통계학적인 유의성은 없었다. 이는 저분화 선암종에 포함된 미분화성 암종이 상대적으로 높은 NSE 양성 세포 발현율을 나타냈기 때문으로 사료된다. 점액을 풍부히 함유하고 있는 암종, 즉 점액 선암종 및 인환 세포암종에서 점액은 NSE 음성이었고, 점액을 풍부히 함유한 인환 세포보다는 점액 함유량이 적고 크기가 작은 미성숙 세포가 NSE 양성으로 나타났다. 그러나 점액 선암종 및 인환 세포암종과 관상 선암종의 간의 NSE 양성 세포

**Table 9. Multivariate analysis of NSE positivity(1)**

Dependent variable: NSE(0=negative, 1=positive)

INDEPENDENT VARIABLE	COEFFICIENT	STD. ERROR	Z
AGE in years	.0291484	.013955	2.09*
SEX(0= male, 1= female)	.3190382	.301182	1.06
GROSS(0=EGC, 1=AGC)	-.0717559	.389502	-.18
TYPE(0=ulcerative, 1=polypoid)	.6169019	.322560	1.91
A-(0=not involved, 1=involved)	.4113182	.447912	.92
B-(0=not involved, 1=involved)	.4050484	.395794	1.02
F-(0=not involved, 1=involved)	.9429801	.671988	1.40
C-(0=not involved, 1=involved)	-1.6457801	1.104387	-1.49
WHO(0= W/D or M/D, 1=P/D or SIGNET)	-.0620098	.337305	-.18
MUCIN(0= W/D, M/D or P/D, 1=MUCIN or SIGNET)	-.4574239	.479294	-.95
CONSTANT	-2.9819262	.959961	-3.11
LIKELIHOOD RATIO STATISTIC(10) D.F.: 21.0381			

발현율에 통계학적으로 의미있는 차이는 없었다. 다만 접액 선암종의 검체량이 충분치 못한 때문임을 배제할 수 없었다.

본 연구에서 남자는 163예 중 48예(29.4%), 여자는 89예 중 30예(33.7%)의 NSE-양성 세포 발현율을 보 여서, 통계학적으로 유의할만한 남녀간의 차이는 없었 다. 이것은 위암내 장크롬친화성 세포가 남자에서 더 높게 발현된다는 이 등의 보고<sup>26)</sup>와는 상이한 결과이 다.

위암종의 발생 위치 별로 분석하면, 위전역을 침범 하거나 분문부에 생긴 암종내 NSE-양성 세포의 발현 이 저조하였으나, 원발병소에 따른 NSE-양성 세포 의 분포차이는 없었으며, 이는 다른 연구자들의 보 고<sup>3,19,21,23,24)</sup>와도 일치한다.

위암종의 육안적 성장형태에 따라 분석해보면, 용기 형(AGC I, II 및 EGC I, IIa)에서 보다 높은 NSE-양성 세포 발현율을 보였다( $P < 0.005$ ). 또한, 소수의 내분비세포를 함유한 외분비암종을 제외하고, 미만성 으로 내분비세포가 발현된 혼합형암종 및 내분비암종 을 대상으로 분석해보면, 통계학적 유의성은 더욱 높 았으나 용기형 종양의 조직형이 대부분 고분화형임에 주목할 필요가 있다.

10세 단위로 비교하여 본 연령별 NSE-양성 세포 발현율은 고령군에서 높게 나타났으며, 한살 단위로 비교하면 나이가 증가할수록 NSE 양성율이 증가하였

다(odds ratio=1.029,  $p < 0.05$ ). 미만성으로 NSE-양 성 세포가 출현한 내분비암종 및 혼합형암종을 나이에 따라 분석하면, 위의 결과는 더욱 현저하게 나타났다. 따라서, 연령별 출현빈도에 차이가 없었다는 이 등의 보고<sup>26)</sup>와는 상이한 결과를 보였다. 이러한 성적 역시 고령군에서 고분화형 위암종의 발생이 높기 때문에 단 순 비례적인 현상으로 해석하는 데는 위험이 따른다.

고령군에서 고분화형 및 용기형 위암종의 발생이 높 고, 용기형 종양의 조직형이 대부분 고분화형임이 알 려져 있는바, 각 임상-병리학적 지표 간의 간접적 상호 영향을 배제하고자, 다변량 분석을 시행하였다. 그 결 과 나이가 증가할수록 NSE-양성 세포 발현율이 증가 하였으며, 용기 및 팽창성 성장형 종양에서 보다 높은 NSE 양성율을 보였다(Table 9). 미만성으로 NSE-양 성을 보인 혼합형 암종을 분석하면 위의 결과는 더욱 현저히 나타났다(Table 10).

Azzopardi 및 Pollock<sup>3)</sup>과 최 및 유<sup>25)</sup>는 분화가 좋은 선암의 경우에서 더 많은 내분비 세포의 출현빈 도를 보였다고 보고한 반면, 조직학적 양상에 따른 출 현빈도의 차이를 관찰할 수 없었다는 보고도 있으 며<sup>23,26)</sup>, Kubo 및 Watanabe<sup>21)</sup>는 분화가 좋지않고 산재성인 경우에 더 많은 출현빈도를 보인다고 하였 다. 이러한 결과의 차이는 염색방법, 종양의 분화정도 를 분류하는 기준의 차이, 또는 암종에 대한 검색범위 의 차이등이 관여한다고 전제할 때, 충분한 수의 검

Table 10. Multivariate analysis of NSE positivity(2)

Dependent variable: MIXED(0=negative or occult, 1=mixed or NE)

INDEPENDENT VARIABLE	COEFFICIENT	STD. ERROR	Z
AGE in years	.0734394	.024075	3.05*
SEX(0= male, 1=female)	-.2839671	.464617	-.61
GROSS(0=EGC, 1=AGC)	1.3244063	.812907	1.63
TYPE(0=ulcerative, 1=polypoid)	1.4131738	.430986	3.28*
A-(0=not involved, 1=involved)	-1.0343654	.833345	-1.24
B-(0=not involved, 1=involved)	-.7727520	.713617	-1.08
F-(0=not involved, 1=involved)	.2758544	1.080795	.26
C-(0=not nvolved, 1=involved)	-12.1558064	*****	-.07
WHO(0= W/D or M/D, 1=P/D or SIGNET)	-.3270139	.470488	-.70
MUCIN(0= W/D, M/D or P/D, 1=MUCIN or SIGNET)	-1.1413016	1.124556	-1.01
CONSTANT	-6.4542312	1.793168	-3.60
LIKELIHOOD RATIO STATISTIC(10) D.F.:	43.8477		

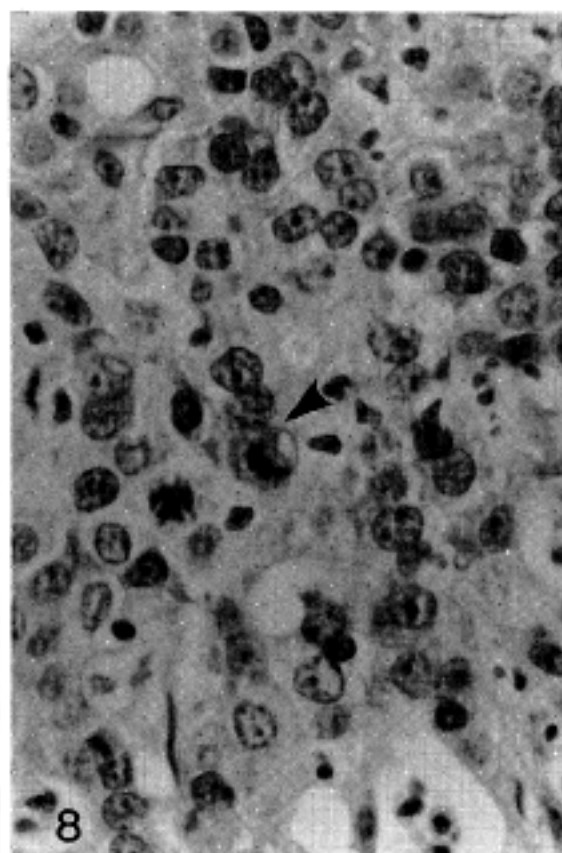
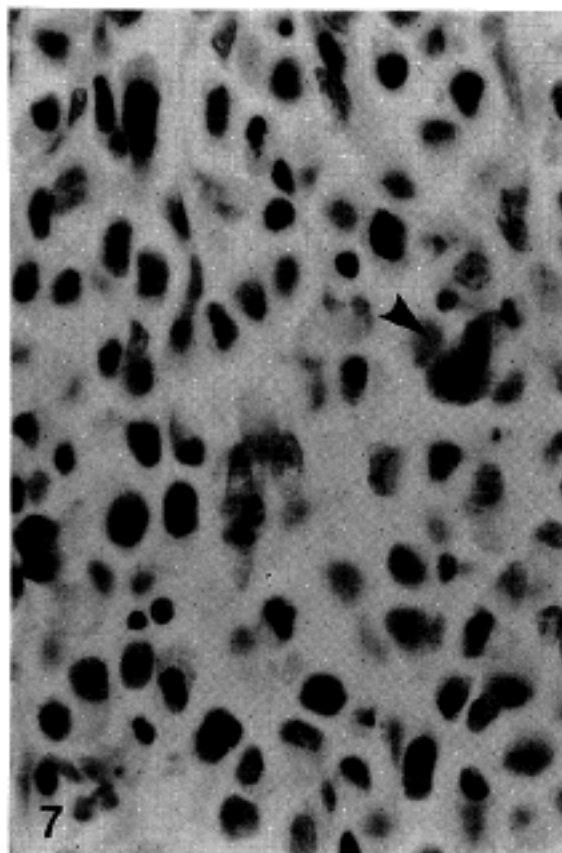


Fig. 7. Poorly differentiated adenocarcinoma shows occasional NSE-positive cells with nuclear atypism(ABC stain for NSE).

Fig. 8. Moderately differentiated tubular adenocarcinoma discloses a NSE-positive cell in mitosis(ABC stain for NSE).

체를 대상으로 면역조직화학적 기법과 은착색법을 같이 시행하거나 여러가지 내분비 표지자를 병합하여 사용한 연구가 필요하다고 생각된다.

Smith 및 Haggitt<sup>36)</sup>는 이러한 내분비 세포가 종양내 신생세포로 존재할 수 있는 현상을 크게 4가지로 구분하여 설명하였다. 첫째, 종양내에 정상적인 기은성 혹은 호은성 세포가 단순히 포함되는 경우, 둘째, 종양 내에서 기은성 및 호은성 세포가 양성 증식을 하는 경

우, 셋째, 두가지 서로 다른 간세포(stem cell)에서 각기 양성증식을 하는 경우, 넷째, 한 종류의 간세포에서 각기 선암과 악성의 기저과립 세포로 분화하는 경우 등 4가지로 설명하였다.

본 연구에서는 고유근층이나 장막으로 퍼진 선암종내에서도 NSE-양성 세포를 관찰할 수 있었을 뿐만 아니라, 신경 주변으로 침습한 경우와 핵의 비전형성을 관찰할 수 있어, 이들 NSE-양성 세포 역시 양성증

식을 하는 암세포로 생각하였다(Fig. 7). 소수의 예에서는 핵분열을 하고 있는 세포의 세포질이 NSE-양성으로 발색하는 경우도 있어, 이들 NSE-양성 세포가 암세포임을 뒷받침 하고 있다(Fig. 8.)

한편, 장크롬친화성 세포의 기원에 대해서는 현재 크게 2가지 가설로 집약된다. 그 첫째는 Pearse 및 Polak<sup>37-40)</sup>이 주장한 APUD(Amine Precursor Uptake and Decarboxylation)의 개념으로, 장크롬친화성 세포의 기원에 신경절릉(neural crest)의 세포가 관여한다는 가설이다. 또 하나의 가설은 이들 장크롬친화성 세포가 내배엽성 원시세포에서 분화한다는 가설로서, 1974년 Andrew<sup>41)</sup>가 동물실험에 의해 처음 주장한 이후 여러 연구자들의 실험에 의해 뒷받침되고 있다<sup>42-45)</sup>. 이러한 증거들을 종합하여 Miller 및 Sumner<sup>46)</sup>는 대장의 경우 원시적인 형태의 내배엽성 세포가 원주세포, 배상세포, Paneth 세포, 기저과립세포 등으로 분화하며, 간세포(stem cell)의 분화에 이상이 있을 경우 미분화암종을, 원주세포나 배상세포의 이상분화시 선암종을, 호은성 세포의 이상분화시 유암종으로 변할 수 있다고 하였고, 이는 모든 장관계에 해당되는 것으로 받아들여지고 있다.

본 연구와 같이 위의 선암종 내에서 내분비 세포가 발현됨은, 종양세포가 단일클론 세포(monoclonal cell)에서 발생한다는 clonal theory<sup>47,48)</sup>에 입각하여 볼때, 위선암종은 내배엽의 미분화된 간세포(totipotent stem cell)에서 기원한다고 사료되며, 외분비암종이나 내분비성이란 이들 미분화 세포의 분화방향에 따른 일련의 암종군(spectrum)의 양극단 종양이라고 해석할 수 있을 것이다.

### 결 론

위 선암종내 내분비 세포의 출현빈도를 조사하고, 이들의 임상적, 육안적, 및 조직학적 양상에 따른 내분비 세포의 발현율 차이를 관찰하며, 나아가서 위 선암종의 조직학적 발생기원을 검토코저, 임의의 6개월 동안에 외과적으로 절제되어 위선암종 및 유암종으로 확진된 252예의 위검체를 대상으로 NSE-양성 세포의 분포를 조사하였다.

252예의 위암종중 78예(31%)에서 NSE-양성 세포의 발현을 보였고 이들을 NSE-양성 세포가 나타나는

양상에 따라 구분하면, 완전 외분비암종 174예(69%), 완전 신경내분비암종 2예(0.8%), 혼합형암종 32예(12.7%), 소수의 내분비 세포를 함유한 외분비암종 44예(17.5%)로 구분할 수 있었다. 나이가 증가할수록 NSE-양성 세포발현율은 증가하였으나(p<0.05), 성별 및 위암종의 발생위치에 따른 NSE-양성 세포 발현율의 차이는 없었다. 용기 및 팽창성 성장형(AGC Borrmann type I, II 및 EGC type I, IIa)에서 보다는 높은 NSE-양성 세포의 발현율을 보였으나(p<0.05), 조직학적 유형 및 분화도에 따른 NSE-양성 세포의 출현빈도는 통계학적으로 유의할만한 차이를 보이지 않았다.

이상의 결과로 미루어 위암종은 외분비 세포뿐 아니라 내분비 세포로도 분화할 수 있는 미분화된 간세포로부터 기원하며, 외분비성 및 내분비성 종양은 외분비-내분비 분화능을 지닌 위암종군의 양 극단적 표현형을 시사하고 있다.

### 참 고 문 헌

- 1) Tahara E, Ito H, Nakagami K, Shimamoto S, Yamamoto M, Sumii L: *Scirrhous argyrophil cell carcinoma of the stomach with multiple production of polypeptide hormones, amine, CEA, lysozyme and HCG. Cancer* 49: 1904-1915, 1982
- 2) Ali MH, Davidson A, Azzopardi JG: *Composite gastric carcinoid and adenocarcinoma. Histopathology* 8: 529-536, 1984
- 3) Azzopardi JG, Pollock DJ: *Argentaffin and argyrophil cells in gastric carcinoma. J Pathol Bact* 86: 443-451, 1963
- 4) Bates HR, Belter LF: *Composite carcinoid tumor (argentaffinoma-adenocarcinoma) of the colon; Report of two cases. Dis Colon Rectum* 10: 467-470, 1967
- 5) Chejfec G, Capella C, Solcia E, Jao W, Gould VE: *Amphicrine cells, dysplasia and neoplasia. Cancer* 56: 2683-2690, 1985
- 6) Chong FK, Graham JH, Madoff IM: *Mucin-producing carcinoid("composite tumor") of upper third of esophagus; A variant of carcinoid tumor. Cancer* 44: 1853-1859, 1979
- 7) Hernadez FJ, Reid JD: *Mixed carcinoid and mucus-secreting intestinal tumors. Arch Pathol* 88: 489-496, 1969

- 8) Klappenbach RS, Kurman RJ, Sinclair CF, James LP: *Composite carcinoma-carcinoid tumors of the gastrointestinal tract; A morphologic, histochemical and immunocytochemical study. Am J Clin Pathol* 84: 137-143, 1985
- 9) Klein HE: *Mucinous carcinoid tumor of the vermiform appendix. Cancer* 33: 770-777, 1974
- 10) Murayama H, Imai T, Kikuchi M: *Solid carcinomas of the stomach; A combined histochemical, light and electron microscopic study. Cancer* 51: 1673-1681, 1983
- 11) Parks TG: *Malignant carcinoid and adenocarcinoma of the stomach. Brit J Surg* 57: 377-379, 1970
- 12) Prade M, Bara J, Gadenne C, Bognel C, Charpentier P, Ravazzola M, Caillou B: *Gastric carcinoma with argyrophilic cells; Light microscopic, electron microscopic, and immunochemical study. Hum Pathol* 13: 588-592, 1982
- 13) Ulich TR, Cheng L, Glover H, Yang K, Levin KJ: *A colonic adenocarcinoma with argentaffin cells. An immunoperoxidase study demonstrating the presence of numerous neuroendocrine products. Cancer* 51: 1483-1489, 1983
- 14) Soga J, Tazawa K: *Pathologic analysis of carcinoids; Histologic reevaluation of 62 cases. Cancer* 28: 990-998, 1971
- 15) Yamashina M, Flinner RA: *Concurrent occurrence of adenocarcinoma and carcinoid tumor in the stomach; A composite tumor or collision tumors? Am J Clin Pathol* 83: 233-236, 1985
- 16) 김용일, 이정빈: 초기 위암 및 만성 위염 연구를 위한 철제위검색 개량법. *대한외과학회지* 19: 179-187, 1977
- 17) Oota K, Sobin LH: *Histological typing of gastric and oesophageal tumours. International histological classification of tumours No. 18. Geneva, WHO, 1977*
- 18) Jansson D, Gould VE, Gooch GT, Rittenhouse HG, Shin SS, Manderino GL, Tomita JT, Staren ED: *Immunohistochemical analysis of colon carcinomas applying exocrine and neuroendocrine markers. APMIS* 96: 1129-1139, 1988
- 19) Honma Y, Ninomiya H, Maeda S: *Case report of the primary gastric cancer with the argentaffin cells. Gann* 18: 632-634, 1957
- 20) Lillie RD, Glenner GG: *Histological reaction in carcinoid tumors of the human gastrointestinal tract. Am J Pathol* 36: 623-652, 1960
- 21) Kubo T, Watanabe H: *Neoplastic argentaffin cells in gastric and intestinal carcinomas. Cancer* 27: 447-454, 1971
- 22) Watanabe H: *Argentaffin cells in adenoma of the stomach. Cancer* 30: 1267-1274, 1972
- 23) Tahara E, Haizuka S, Kodama T, Yamada A: *The relationship of gastrointestinal endocrine cells to gastric epithelial changes with special reference to gastric cancer. Acta Pathol Jpn* 25: 161-177, 1975
- 24) Lei DN, Elias JM: *The detection of serotonin and gastrin in gastric carcinoma. Am J Clin Pathol* 80: 436-440, 1983
- 25) 최 찬, 유주용: *Serotonin, somatostatin 및 gastrin 양성 위 선암세포에 대한 면역조직화학적 연구. 대한병리학회지* 20: 391-401, 1985
- 26) 이한영, 이광길, 이유복: *위장관계암에 있어서의 enterochromaffin 세포 출현 빈도에 관한 연구. 대한 병리학회지* 20: 49-59, 1986
- 27) Sternberger LA, Hardy PH, Cuculis JJ, Meyer HG: *The unlabeled antibody-enzyme method of immunochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex(horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. J Histochem Cytochem* 18: 315-333, 1970
- 28) Hsu SM, Raine L, Fanger H: *Use of avidin-biotin-peroxidase complex(ABC) in immunoperoxidase techniques; A comparison between ABC and unlabeled antibody(PAP) procedures. J Histochem Cytochem* 29: 577-580, 1981
- 29) Bishop AE, Power RF, Polak JM: *Markers for neuroendocrine differentiation. Pathol Res Pract* 183: 119-128, 1988
- 30) Chejfec G, Falkmer S, Askensten U, Grimelius L, Gould VE: *Neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract. Path Res Pract* 183: 143-154, 1988
- 31) Bock E, Dissing J: *Demonstration of enolase activity connected to brain specific protein 14-3-2. Scand J Immunol* 4: 31-36, 1975
- 32) Schmechel D, Marangos PJ, Brightman M: *Neuron specific enolase is a molecular marker for peripheral and central neuroendocrine cells. Nature* 276: 834-836, 1978
- 33) Bishop AE, Polak JM, Facer P, Ferri GL, Marangos PJ, Pearse AGE: *Neuron specific*

- enolase; A common marker for the endocrine cells and innervation of the gut and pancreas. Gastroenterology* 83: 902-915, 1982
- 34) Tapia FJ, Varndell IM, Probert L: *Double immunogold staining method for the simultaneous ultrastructural localisation of regulatory peptides. J Histochem Cytochem* 31: 977-981, 1983
- 35) Lundqvist M, Wilander E, Esscher T, Pahlman S: *Neuron-specific enolase in mucosal endocrine cells and carcinoid tumors of the small intestine; A comparative study with neuron-specific enolase, immunocytochemistry and silver stains. Histochem J* 17: 323-331, 1985
- 36) Smith DM, Haggitt RC: *The prevalence and prognostic significance of argyrophil cells in colorectal carcinomas. Am J Surg Pathol* 8: 123-128, 1984
- 37) Pearse AGE: *Common cytochemical properties of cells producing polypeptide hormones, with particular reference to calcitonin and the thyroid C cells. Vet Rec* 79: 587-590, 1966
- 38) Pearse AGE: *The cytochemistry and ultrastructure of polypeptide hormone producing cells of the APUD series and the embryologic, physiologic and pathologic implications of the concept. J Histochem Biochem* 17: 303-313, 1969
- 39) Pearse AGE, Polak JM: *Cytochemical evidence for the neural crest origin of mammalian ultimobranchial C cells. Histochemistry* 27: 96-102, 1971
- 40) Pearse AGE, Polak JM: *Neural crest origin of the endocrine polypeptide cells of the gastrointestinal tract and pancreas. Gut* 12: 783-788, 1971
- 41) Andrew A: *Further evidence that enterochromaffin cells are not derived from the neural crest. J Embryol Exp Morphol* 31: 589-598, 1974
- 42) Pictet RL, Rall LB, Phelps P, Rutter WJ: *The neural crest and the origin of the insulin-producing and other gastrointestinal hormone-producing cells. Science* 191: 191-192, 1976
- 43) Cheng H, Leblond CP: *Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine. V. Unitarian theory of the origin of the four epithelial cell types. Am J Anat* 141: 537-561, 1974
- 44) Matsuyama M, Suzuki H: *Differentiation of immature mucous cells into parietal, argyrophil, and chief cells in stomach grafts. Science* 169: 385-386, 1970
- 45) Sidhu GS: *The endodermal origin of digestive and respiratory tract APUD cells. Histopathologic evidence and a review of the literature. Am J Pathol* 96: 5-20, 1979
- 46) Miller RR, Sumner HW: *Argyrophilic cell hyperplasia and an atypical carcinoid tumor in chronic ulcerative colitis. Cancer* 50: 2920-2925, 1982
- 47) Nowell PC: *The clonal evolution of tumor cell populations. Science* 194: 23-28, 1976
- 48) Fialkow PJ: *Clonal origin of human tumors. Biochem Biophys Acta* 458: 283-321, 1976