

신경모세포성종양의 조직학적 분화도에 따른 면역조직화학적 특성 및 배수성 분석

연세대학교 의과대학 병리학교실 및 원주의과대학 병리학교실*

고재향 · 정우희 · 정순희* · 김태승 · 박찬일

Immunohistochemical Characteristics According to Histologic Differentiation and Flow Cytometric Analysis of DNA Ploidy in Neuroblastic Tumors

Jai Hyang Go, M.D., Woo Hee Jung, M.D., Soon Hee Jung*, M.D.
Tai Seung Kim, M.D. and Chanil Park, M.D.

Department of Pathology, Yonsei University College of Medicine
*Department of Pathology, Yonsei University Wonju College of Medicine**

Neuroblastoma, ganglioneuroblastoma and ganglioneuroma are derived from primordial neural crest cells and can be conceptualized as three different maturational manifestations of a common neoplasm. To assess the validity of immunohistochemistry and DNA ploidy in the diagnosis of neuroblastic tumor in terms of prognostication, histologic and immunohistochemical evaluation with NB-84, neuron specific enolase(NSE) and S-100 protein and flow cytometric DNA analysis were done on 21 neuroblastomas and 19 ganglioneuromas.

Thirteen of 21 neuroblastomas were undifferentiated and 8 differentiating in type. Eleven of the 19 ganglioneuromas were mature in type and 8 had immature foci.

81% of neuroblastomas were positive for NB-84, 100% for NSE and 67% for S-100 protein, respectively. All ganglioneuromas were positive for NSE and S-100 protein, in contrast, only immature foci in ganglioneuroma were positive for NB-84.

NB-84 reacted positively with undifferentiated and differentiating neuroblasts including neuropil but not with mature ganglion cells. In contrast, NSE reacted positively with all components of neuroblastic tumor and S-100 protein mainly with cells of Schwannian differentiation.

Three of eight(37.5%) differentiating neuroblastomas were strongly positive for NB-84 in contrast with seven of thirteen(53.8%) undifferentiated tumors, reflecting that undifferentiated cells tended to be positive for NB-84 in neuroblastoma.

22% of neuroblastoma showed diploidy and 78% aneuploidy including 11% of near-diploidy. Seven of eight(87.5%) differentiating neuroblastomas in contrast with seven of ten(70%) undifferentiated tumors showed aneuploidy. By contrast, 53% of ganglioneuroma showed diploidy and 47% aneuploidy with DNA index ranged from 1.12 to 1.19. Three of nine(33.3%) mature ganglioneuromas in contrast with five of eight(62.5%) ganglioneuromas with immature foci showed aneuploidy. Differentiating neuroblastoma tended to be aneuploid and ganglioneuroma with immature foci tended to be near-diploid.

In conclusion, immunohistochemistry for NB-84, NSE and S-100 protein is useful for confirming neuronal, both neuronal and Schwannian, and Schwannian differentiation, respectively. Immunohistochemistry together with flow cytometric DNA analysis would be helpful to confirm the immature foci in ganglioneuroma. (**Korean J Pathol 1995; 29: 52~60**)

Key Words: Neuroblastoma, Ganglioneuroma, Immunohistochemistry, NB-84, Neuron specific enolase, S-100 protein, DNA ploidy

접 수: 1994년 3월 10일, 게재승인: 1994년 7월 12일

주 소: 서울시 서대문구 신촌동 134, 우편번호 120-752

연세대학교 의과대학 병리학교실, 고재향

서 론

신경모세포종의 조직인 척추주위 신경절과 부신 수질의 신경모세포에서 발생하는 종양은 조직학적 분화 정도에 따라 신경모세포종, 신경절신경모세포종, 신경절 신경종등으로 분류되거나 동상적인 현미경적 소견만으로는 분화의 유무 및 정도를 확정하기 어려울 뿐 아니라 미분화 세포와 분화된 세포들이 여러 양상으로 혼재하여 나타나므로 유형의 분류에 혼동을 가져와 학자에 따라 다양한 용어가 사용되어 왔으며 아직도 용어의 일치를 보지 못한 실정이다^{1,2)}. 신경모세포종의 신경모세포는 세포 배양시 신경 성장인자(nerve growth factor)나 retinoic acid에 의하여 신경원과 슈반세포로의 이중적 분화양상을 보이며 이는 앞서 기술한 분화 정도에 따라 분류한 세가지 종양에서도 형태학적으로만 아니라 neuron specific enolase(NSE), neurofilament, S-100 단백질의 면역조직화학적 표지자로 확인할 수 있다³⁻⁶⁾. 신경모세포종의 경우 진단시 연령, 임상 병기등이 환자의 예후를 추정하는 주요 인자이나⁷⁾, 조직학적 분화정도^{1,2,7,8)}도 생화학적 표지자⁹⁾, N-myc 유전자 증폭 여부¹⁰⁻¹²⁾, DNA 배수성^{4,13,14)}과 더불어 보조적인 인자로 여겨지고 있다. 또한 신경절신경종에서도 미성숙 부위가 미만성 혹은 결절성으로 존재하는 경우가 있을 수 있으며 그에 따른 생물학적 경과도 달라 이에 따라 몇가지 유형으로 다시 세분하기도 한다¹⁵⁾. 그러나 신경모세포종과 신경절 신경종은 동일하게 신경모세포기원의 종양이나 호발 연령, 호발 부위뿐 아니라 생물학적 경과가 크게 달라 종양 발생 기전이 다른 것으로 생각되나 신경모세포종

의 경우에도 임상 병기 IV-S의 경우와 같이 원발 병소가 작으면서도 간, 폐부, 골수등에 광범위한 전이를 일으킨 경우 다수에서 전이 병소를 포함한 종양 병변이 자연적으로 퇴축하거나 신경절신경종으로 분화되어 치유되는 경우가 있으며 신경모세포종의 방사선 치료, 항암 치료후 생검된 조직에서 괴사와 함께 신경절신경종의 양상으로 분화되는 부위를 함께 관찰하기도 한다¹⁶⁾. 또한 신경모세포종에서 유세포 분석기를 이용한 DNA 배수성 유형은 예후를 추정하는 보조적 인자로 사용되며 환자의 연령, N-myc 유전자의 증폭 여부와도 연관이 있는 것으로 되어 있다. 그러나 신경절신경종에 대한 DNA 배수성 유형에 관한 보고는 신경모세포종과 함께 병행하여 시행한 소수의 산발적인 보고만이 있을 뿐이다¹⁷⁾. 따라서 본 연구에서는 일련의 신경모세포기원종양에서 분화 정도에 근거를 둔 조직학적 유형에 따라 면역조직화학 염색양상과 배수성 유형의 차이가 있는지를 알아보고, 차이가 있다면 생물학적 경과가 크게 다른 신경모세포종양의 유형을 나누는데 조직학적 소견과 병행하여 보조적인 방법으로서의 유용성이 있는지를 평가하였다.

재료 및 방법

1. 재료

연세대학교 의과대학 병리학교실에서 1979년부터 1993년 8월까지 진단된 신경모세포종과 신경절신경종 중 면역조직화학 염색과 유세포 분석에 필요한 파라핀 블록 보존이 양호하고 조직의 양이 충분한 각 21예와 19예를 대상으로 하였다. 신경모세포종은 15예가 증

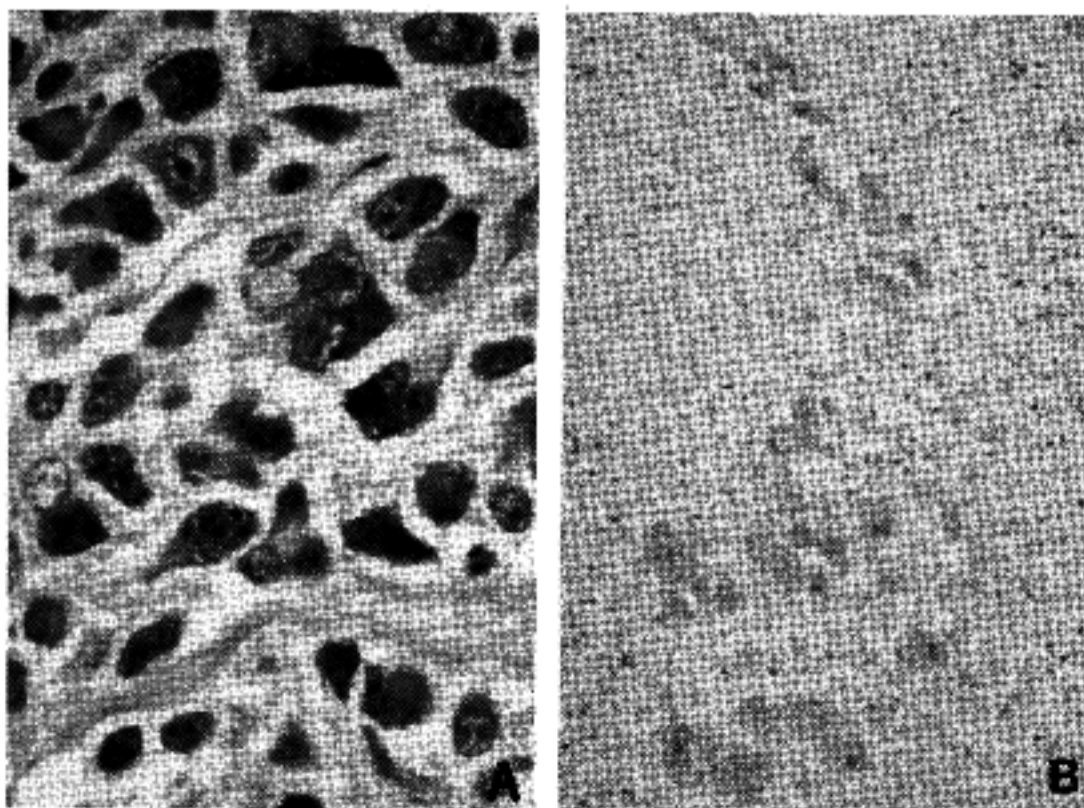


Fig. 1. (A) Differentiating neuroblastoma. Cytodifferentiation in a classic neuroblastoma, showing enlarged vesicular nuclei, increased cytoplasmic volume and neuropil formation. (B) Ganglioneuroma with immature foci. Intermixed pattern of circumscribed collections of mature and immature ganglion cells and neuroblasts in neurofibrillar background.

과 적출, 6예가 생검을 통하여 얻은 조직이었으며, 신경절신경종은 전 예가 종괴 적출을 통해 얻어졌다.

2. 방법

1) 임상기록 검토: 환자들의 진단시 연령, 성별, 임상 병기 및 원발 병소등을 조사하였다. 임상 병기는 Evans의 분류⁸⁾를 적용하였다.

2) 병리조직학적 검색: 10% 중성 포르말린에 고정 후 파라핀에 포매하여 보관된 블록을 연속 절편하여 hematoxylin-eosin염색을 시행한 후, 신경모세포종은 조직학적으로 Beckwith와 Martin²⁰⁾의 분류에 근거한 분화의 특성 즉 핵이 커지고 핵인이 뚜렷해지며 호산성의 세포질이 풍부해지는 신경모세포가 전체 종양의 5% 이상을 차지할 때 분화형 그렇지 않은 경우 미분화형 신경모세포종으로 분류하였고(Fig. 1A), 신경절신경종은 성숙형과 미성숙 부위를 갖는 신경절신경종^{1,2)}으로 분류하였다(Fig. 1B).

3) 면역조직화학적 검색: 각 예의 조직 표본중 조직학적 분류형을 대표할 만한 블록을 2개이상 선택하여 4~5 μ m 두께로 연속 절편후 labeled streptavidin biotin(LSAB)방법으로 NB-84(Novocastra, United Kingdom), neuron specific enolase(Biomed, CA, USA), S-100 단백질(DAKO, Kyoto 600)에 대한 염색을 시행하였다. 각 표지자에 대한 종양의 양성율을 알아보고, 양성인 세포의 수가 소수인 경우 +, 쉽게 인지할 수 있는 경우 ++, 많은 경우 +++로 등급을 분류하였다. 또한 종양의 구성성분에 따른 염색 양상을 비교하였다.

4) 유세포 분석: 각 예의 조직 표본중 면역조직화학적 염색을 위해 사용했던 것과 동일한 블록을 50 μ m 두께로 연속 절편하여 Headly등에 의한 방법으로 단일 세포부유액을 만든 후²¹⁾ propidium iodide로 염색한 뒤 laser beam을 이용한 FACScan(Beckton-Dickenson, Sunnyvale, CA, USA) 유세포 측정기로 핵내 DNA량을 측정하여 배수성 분석과 DNA지수를 구하였다.

결 과

1. 임상 소견

진단 당시 환자의 연령 분포는 신경모세포종의 경우 21예중 12예(57%)가 18개월 미만으로 가장 많았고 18개월에서 5세가 7예였으며 5세 이상은 2예뿐이었다(평균: 24.7개월). 반면에 신경절신경종의 경우는 19예중 18개월 미만은 한 예도 없었고 18개월에서 5세 사이가 4예, 5세 이상이 15예였고 이 중 12예가 15세 이상의 연령으로 가장 많은 부분을 차지하였다(평균: 28.1세). 남녀성비는 각기 12:9와 8:11로 큰 차이는 없었다. 신경모세포종을 Evans의 분류에 따라

Table 1. Histologic classification of neuroblastic tumor

Histologic subtype	No. of cases
Neuroblastoma	
differentiating	8
undifferentiated	13
Ganglioneuroma	
mature	11
with immature foci	8

No.; number of cases

임상 병기를 나누었을 때 I기 3예, II기 2예, III기 11예, IV기 4예, IVS기 1예로 III기가 가장 많았다. 원발병소는 신경모세포종의 경우 18예(81%)가 복부 가장 많았고 이 중 부신이 7예였으며 4예가 종격동이 있었다. 반면에 신경절신경종의 경우는 복부 8예중 부신이 2예였고 종격동이 8예였다.

2. 병리조직학적 소견

신경모세포종은 분화형이 8예, 미분화형이 13예였으며 신경절신경종은 성숙형이 11예, 미성숙 부위를 갖는 경우가 8예였다(Table 1).

3. 면역조직화학적 소견

신경모세포종은 neuron specific enolase(NSE)에 전 예가 양성인 반면 NB-84에는 17예(81%), S-100 단백질에는 14예(67%)가 양성이었다(Table 2). 양성반응을 보이는 세포의 수에 따른 염색 등급은 NB-84에 양성인 경우는 17예중 10예가, NSE에 양성인 경우는 21예 모두 ++이상에 속하여 NSE에 양성인 세포수가 더 많았다(Table 3). 분화 정도와 NB-84에 대한 염색등급을 비교하였을때 분화형은 1예가 음성, 7예가 양성이고 이 중 3예가 ++이상이었다. 반면에 미분화형은 3예가 음성, 10예가 양성이고 이 중 7예가 ++이상이었다(Table 4). 염색되는 양상도 차이가 있어, NB-84는 신경모세포의 세포질에 미만성 양성반응을 보였고 신경망에는 일부에서만 약하게 반응을 보인 반면(Fig. 2A), NSE는 신경망에 강하게 염색되었고 세포질에는 신경망에 비하여 다소 약한 반응을 보였다(Fig. 2B). S-100 단백질은 종양세포군내 소수의 세포와, 기질 내에 산재해 있는 방추형 세포의 일부에 양성이었다(Fig. 3). 신경절신경종은 미성숙 부위를 갖는 경우 8예 모두 NB-84에 양성이고, 성숙형의 경우는 11예 모두 음성이었다. NSE와 S-100 단백질에 대하여는 종양의 전 예에서 양성이었다(Table 2). 염색 양상을 살펴보면, NB-84는 미성숙부위 및 슈반성 기질내에 산재해 있는 미성숙 신경절세포와 미성숙 부

Table 2. Immunohistochemical findings in neuroblastic tumor

Histologic diagnosis	No. of cases	NB-84+No.(%)	NSE+No.(%)	S-100-No.(%)
NB				
D	8	7(87.5)	8(100)	6(75)
U	13	10(76.9)	13(100)	8(61.5)
GN				
I	8	8(100)	8(100)	8(100)
M	11	0(0)	11(100)	11(100)

No.; number of cases, -; positive

NB; neuroblastoma, D; differentiating, U; undifferentiated

GN; ganglioneuroma, I; with immature foci, M; mature,

NSE; neuron specific enolase

Table 3. Grades of immunoreactivity for NB-84 and NSE in neuroblastoma

Grade*	Antibody	
	NB-84	NSE
-	4	0
-	7	0
--	5	6
---	5	15
Total	21	21

NSE; neuron specific enolase

* -; no positive cells, -; a few positive cells

++; easily recognizable numbers of positive cells

+++; numerous positive cells

Table 4. Immunoreactivity for NB-84 according to histologic differentiation in neuroblastoma

Differentiation(No.)	Grade*			
	-	+	++	+++
Differentiating(8)	1	4	1	2
Undifferentiated(13)	3	3	4	3
Total(21)	4	7	5	5

NSE; neuron specific enolase

* -; no positive cells, +; a few positive cells

++; easily recognizable numbers of positive cells

+++; numerous positive cells

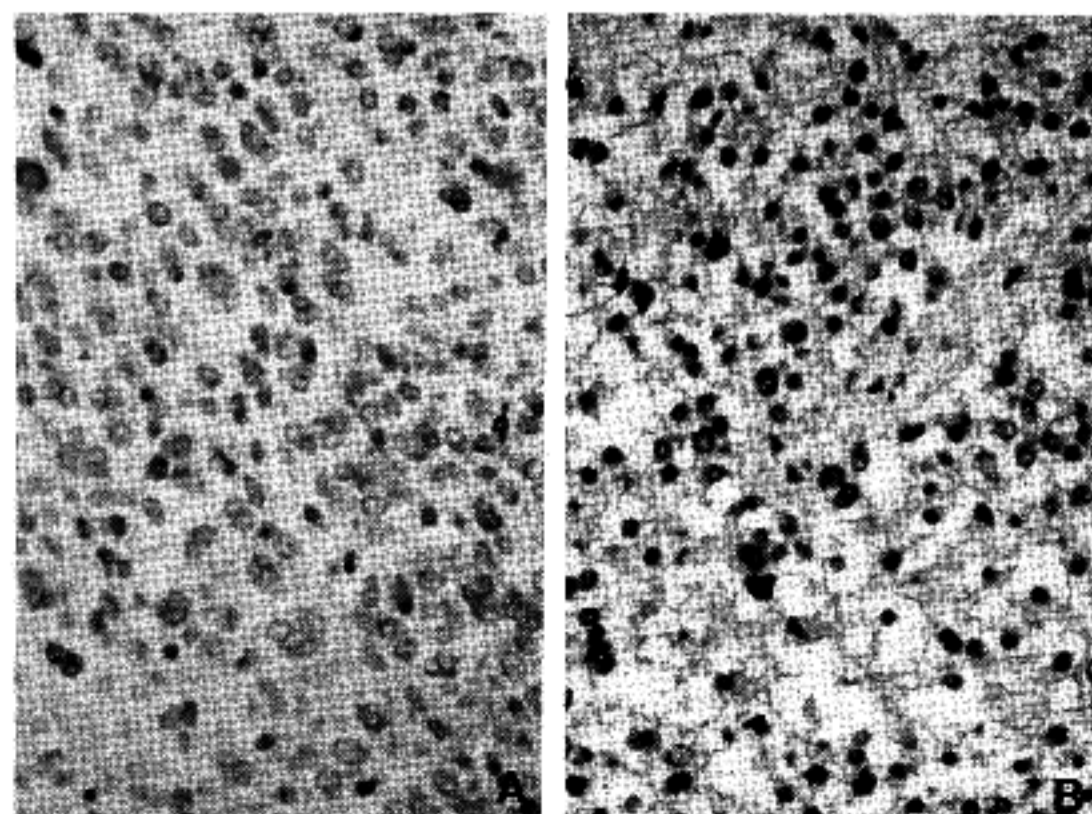


Fig. 2. Immunostaining for NB-84 and neuron specific enolase in neuroblastoma. (A) Diffuse cytoplasmic staining of neuroblasts for NB-84. (B) Stronger staining in neuropil than neuroblasts for neuron specific enolase.

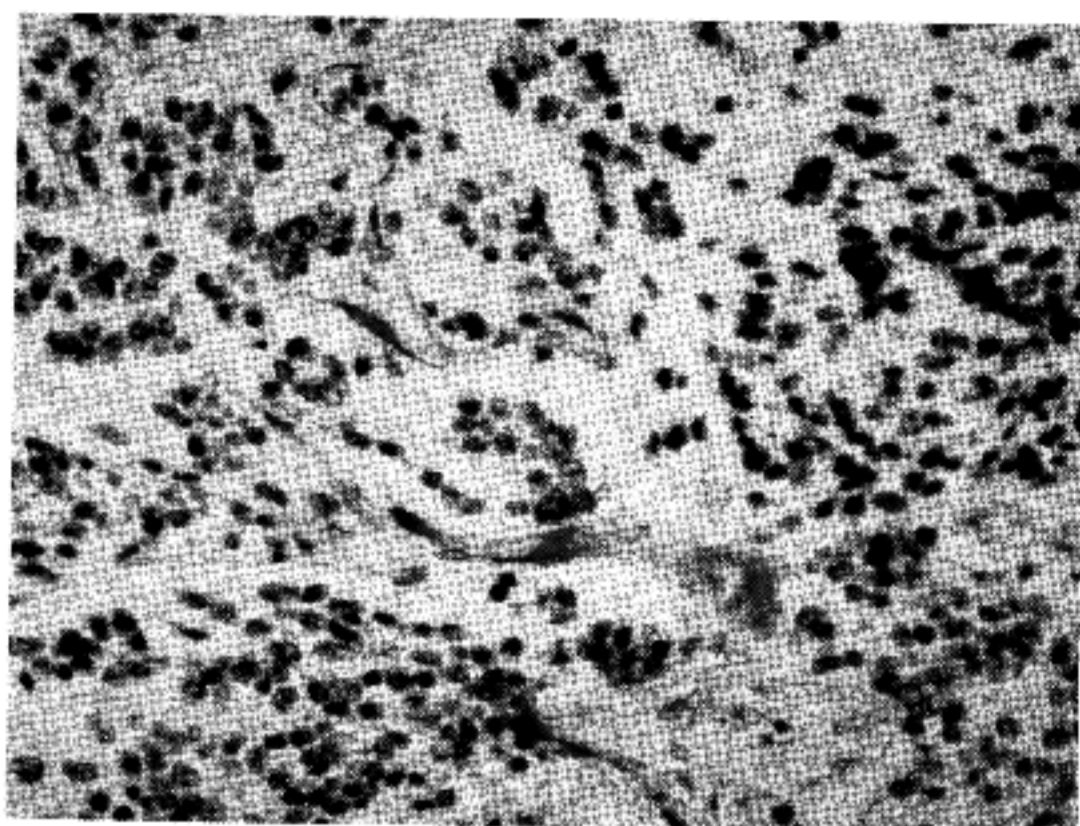


Fig. 3. S-100 protein positive Schwannian cells surrounding neuroblastic nests in neuroblastoma.

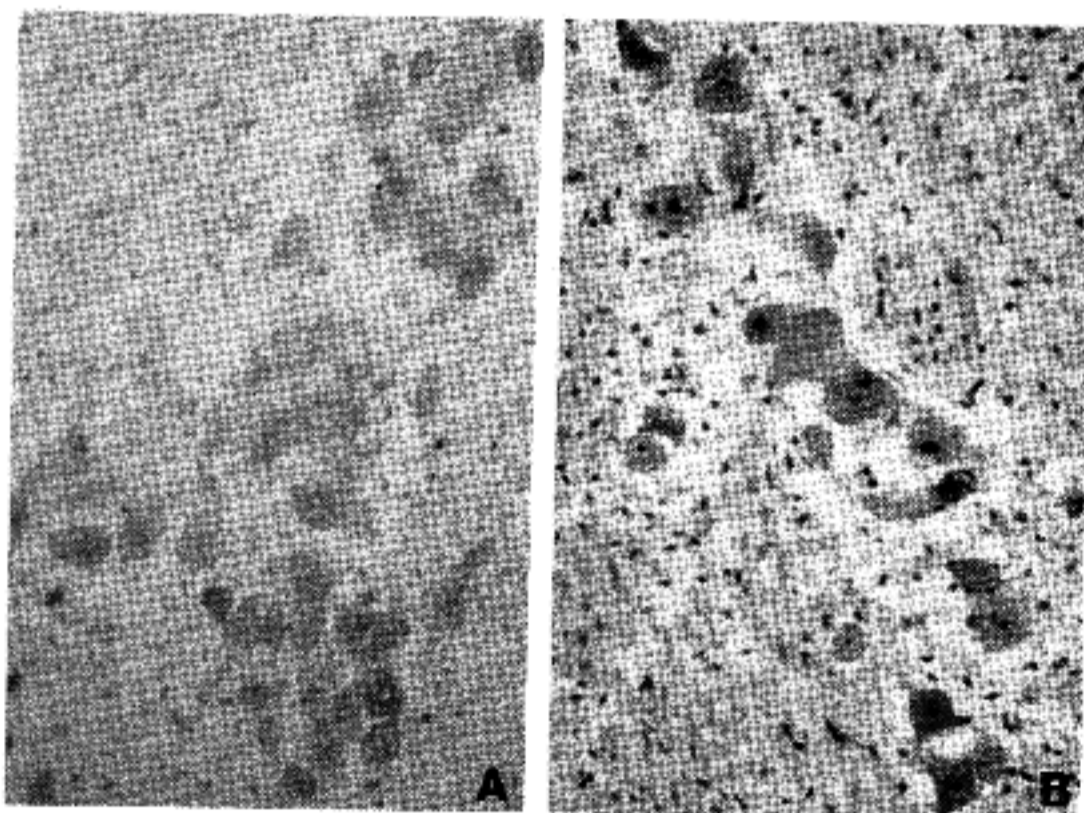


Fig. 4. Immunostaining for NB-84 and neuron specific enolase in ganglioneuroma with immature foci. (A) Positive staining of tumor cells and neuropil in immature foci for NB-84. (B) Not only components of immature foci but also Schwannian stroma are positively stained for neuron specific enolase.

위의 신경망의 일부에 양성이었으나 성숙형의 신경절 세포에는 음성이었다(Fig. 4A). 반면에 NSE는 미성숙 부위의 종양세포와 신경망 뿐 아니라 슈반성 기질에도 양성 있었고 성숙형의 신경절세포에도 일부 양성이었다(Fig. 4B). S-100 단백질은 슈반성 전구세포 및 성숙된 기질과 신경절세포주위의 위성 세포에만 양성이었다(Fig. 5, Table 5).

4. 배수성 유형의 분포

신경모세포종은 유세포 분석이 가능한 18예중 4예

(22%)가 DNA지수 1.0의 이배수성이었고, DNA지수 1.0~1.2의 near-diploidy 2예(11%)를 포함하여 14예(78%)가 비배수성이었다. 비배수성 14예중 8예가 DNA지수 1.2~1.9에 속하여 58%로 가장 많은 부분을 차지하였고, 이 중 2예는 DNA지수 1.4~1.6에 해당하였다. Hypertetraploidy는 3예였다(Table 6). 분화 정도와 비교하였을때, 분화형은 8예중 7예, 미분화형은 10예중 7예가 비배수성으로 분화형에서 비배수성의 비율이 높은 경향이였다(Table 7). 반면에 신경절신경종은 17예중 9예(53%)가 이배수성, 8예(47

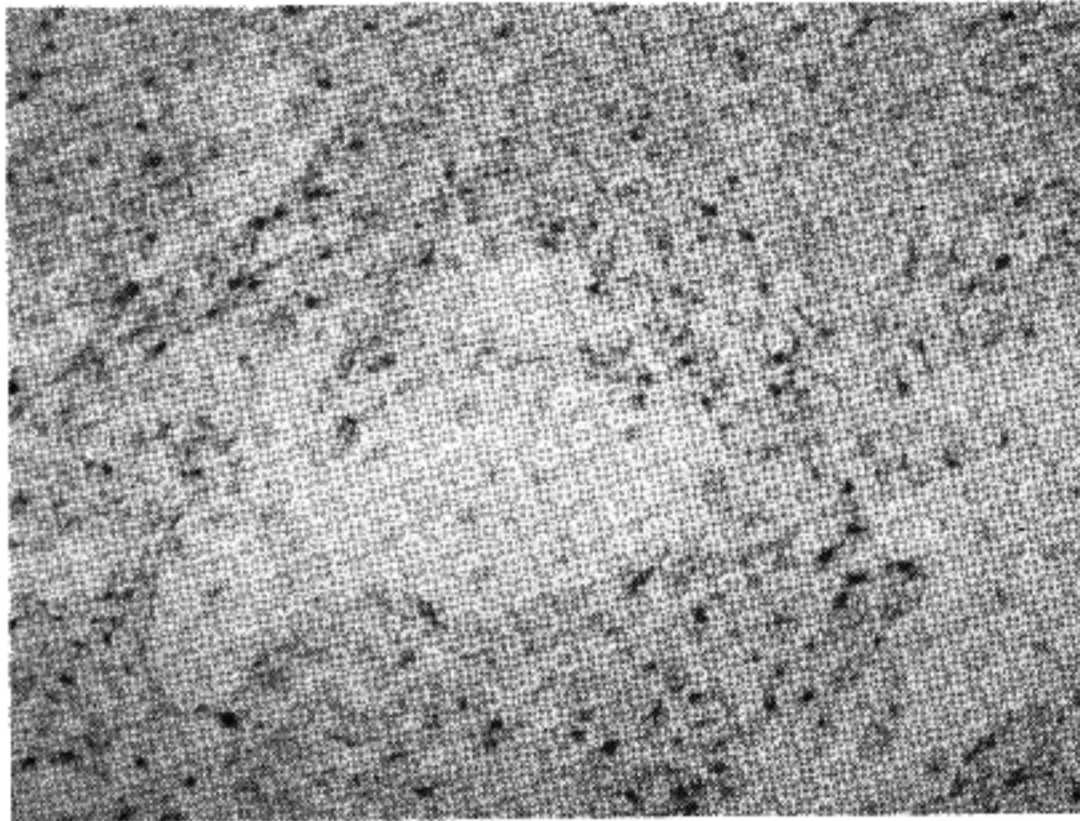


Fig. 5. Schwannian stroma is positively stained for S-100 protein sparing immature foci in ganglioneuroma.

Table 5. Immunoreactivity of tumor components for NB-84, NSE and S-100 in neuroblastic tumor

Tumor component	Antibody		
	NB-84	NSE	S-100
Undifferentiated neuroblasts	+	+	-
Differentiating neuroblasts	-	+	-
Neuropil	-	+	-
Mature ganglion cell	-	+	-
Schwann cell precursor	-	+	-
Mature schwann cell	-	-	-
Satellite cell	-	-	+

NSE; neuron specific enolase, -: negative, +: positive

%)가 비배수성이었으며 이는 모두 near-diploidy 범주에 속하는 DNA 지수 1.12~1.19 사이였다. 분화 정도와 비교하였을 때, 심숙형은 9예중 3예, 미성숙 부위를 갖는 경우는 8예중 5예가 비배수성으로 미성숙 부위를 갖는 경우 비배수성의 비율이 높은 경향이 있었다 (Table 6).

고찰

신경모세포기원종양은 신경릉기원의 부신 수질과 척추주위 신경절의 신경모세포로부터 발생하는 종양으로 조직학적 분화 정도에 따라 신경모세포종, 신경절신경모세포종, 신경절신경종으로 분류되는 일련의 질환군

Table 6. Ploidy pattern (DNA index) according to histologic type in neuroblastic tumor

Ploidy pattern	Type of tumor		
	NB	GN	
		I	M
Diploidy(DI=1.0)	4	3	6
Aneuploidy			
1.0<DI≤1.2(near diploidy)	2	5	3
1.2<DI≤1.9	8*	0	0
1.9<DI≤2.1(near tetraploidy)	1	0	0
DI>2.1(hypertetraploidy)	3	0	0
Total	18	8	9

NB; neuroblastoma, GN; ganglioneuroma, I; with immature foci, M; mature, DI; DNA index

* Two of eight showed near triploid range of DNA index(1.4<DI<1.6).

Table 7. Ploidy pattern related on histologic differentiation in neuroblastoma

Differentiation(No.)	DNA Ploidy	
	Diploidy No.(%)	Aneuploidy No.(%)
Differentiating(8)	1(12.5)	7(87.5)
Undifferentiated(10)	3(30)	7(70)
Total(18)	4(22.2)	14(77.8)

No.; number of cases

을 형성하며 이들은 조직학적 차이뿐 아니라 호발 부위, 호발 연령 및 생물학적 경과에도 큰 차이를 보인다. 이 중 가장 분화가 덜 된 신경모세포종은 유소아기에 발생하는 가장 흔한 고형성 종양중 하나로 향상된 항암 화학요법과 방사선치료의 병용에도 불구하고 여전히 예후가 나쁜 환자군이 있는 반면 골수, 간 및 피부등으로 광범위한 전이가 있어도 자연 치유되는 예가 있어 아직까지 이 종양의 생물학적 경과에 영향을 미치는 요인에 대해서는 이견이 많다^{10,11,18}. 진단시 연령과 임상 병기가 가장 유용한 예후 인자로 여겨져 1세 이상에 발생하거나 임상 병기가 3, 4기인 경우 예후가 나쁜 것으로 되어 있다. 또한 원발 병소가 부신인 경우 척추주위 신경절에서 발생한 경우에 비하여 예후가 나쁘다고 되어 있다¹⁰. 이 외에 조직학적 분화 정도, 생화학적 표지자, 세포 유전학적 이상, 암유전자의 증폭 정도 및 배수성 유형이 예후 인자로서 연구되어 왔다. 일반적으로 조직학적 분화가 덜 되거나^{1,2,7,22}, 조기 경로의 catecholamine 대사산물의 분비가 많거나⁹, N-myc 유전자의 증폭이 많은 경우^{10~14}, 염색체 1번의 단완 결손이나 이중 소체(double minute body), 균일한 염색 부위(homogenously staining region)가 있거나²³ 이배수성인 경우^{4,15,16} 예후가 나쁜 것으로 알려져 있다. 이 중 조직학적 분화정도가 예후 인자로 연구되기 시작한 것은 세포 배양시 미분화 신경모세포가 신경 성장인자나 retinoic acid에 의해 신경원과 슈반세포로의 아중적 분화양상을 보인다는 사실에 근거한 것이며, 조직학적 분화정도에 따라 여러 학자들에 의해 등급의 분류가 이루어졌고 이의 예후와의 연관성에 대하여도 관심이 집중되어 왔다.

신경모세포기원종양의 가장 단순한 분류는 신경모세포종, 신경절신경모세포종, 신경절신경종으로 나누는 것이며, 이외에도 조직학적 분화정도에 따라 몇가지 등급으로 나누는 시도가 이루어졌다^{20,24,25}. 신경모세포의 신경원성 분화의 증거는 세포의 핵이 커지고 핵인이 뚜렷해지며 호산성의 세포질이 풍부해지는 것으로 하였고²⁰, Gitlow²⁶는 이에 세포 돌기와 로제트형성을 더하였으며, Sanstedt²⁷은 신경망형성의 정도에 근거하여 등급을 나누었는데 예후와의 연관성은 찾지 못하였다. 예후 인자로서 조직학적 분화정도의 유용성에 대하여는 찬반 의견들이 있으며 단독으로는 예후 인자가 될 수 없다는 주장도 있다⁵. Shimada²⁸은 이의 한계성에 대하여 지금까지 가장 유용한 예후 인자인 진단시 연령이 첨가된 분류법을 제시하였고 전종양을 슈반성 기질이 풍부한지 혹은 미약한지에 의해 크게 두 군으로 나눈뒤 환자의 연령에 따라 분화 유무와 핵분열-붕괴지수를 각기 달리 적용하여 예후 양호군과 예후 불량군으로 나누어 이 분류법이 예후와 연관이 있음을 제시하였다. 이는 현재까지 가장 좋은 분류법으로 생각되는 경향이나 검색하는 이의 주관성 개

입과 시간 소모의 문제점이 있다.

이러한 분류의 등급에 대한 시도와 연관되어 이중 분화를 확인하는데 여러 면역조직화학적 표지자 즉 신경원성 분화에는 NSE와 neurofilament, 슈반성 분화에는 S-100 단백질이 이용되어 왔고 이들과 예후와의 연관성에 대해서도 몇몇 연구가 있었다^{3~6}. NSE는 신경모세포기원종양의 전 예에서 양성이며 잘 분화된 신경모세포의 세포질에 특히 강양성인 것으로 보고되었다^{4,5,18}. 본 연구에서는 종양의 전 예에서 양성이었으나 모두 ++와 +++에 속하여 분화 정도에 따라 비교할 수 없었고, 실제로 신경망에 강양성인 이유로 세포질내의 양성도를 확인하기 어려웠다. 그러나 신경망의 발달정도를 분화의 증거로 보는 의견들이 있고 성숙형 세포에 양성인 점으로 보아 종양이 분화함에 따라 그 양성도가 증가한다고 할 수 있을 것 같다. 반면 NB-84는 신경망이나 로제트를 형성하거나 신경절세포로의 분화를 보이는 경우 염색 정도가 증가한다고 보고되었으나²⁹, 성숙형 신경절세포에 음성이고 미분화형인 경우 양성인 세포의 수가 더 많은 것으로 보아 오히려 미분화 신경모세포의 특성을 나타내는 표지자인 것 같다. S-100 단백질은 신경모세포종의 말단부나 종양군사이의 슈반성 전구세포와 성숙형 신경절신경종의 종양 세포에 양성으로 나타나 이는 종양 세포의 슈반성 분화를 나타내는 것으로 보고되었다^{4,6}. 본 연구에서는 분화형의 신경모세포종은 8예중 6예, 미분화형인 경우는 13예중 8예가 S-100 단백질에 양성으로 분화형에서 양성도가 약간 높은 경향을 보였으나 통계학적 의의는 없었다. 결과적으로 조직학적 분화양상을 보임에 따라 면역조직화학 염색상 NSE에 대한 염색 정도와 양성인 세포의 수가 증가하고 S-100 단백질에 대한 양성율이 증가하여 이러한 소견들이 예후와 상관이 있다고 여기는 이전의 연구들^{4,6}과 비슷한 경향을 보이는 하나 검색한 자료의 크기가 적어 예후와 연관짓기는 어려웠다. 한편 면역조직화학 염색소견이 예후와는 무관하다는 상반된 연구 결과들^{3,5}도 있다. 본 연구에서는 NB-84의 양성도는 이전의 보고와는 달리 neurofilament나 NSE보다 신경모세포를 인지하는데 우월하지 않았으며 오히려 분화되지 않은 신경모세포에 강하게 염색되어 미분화신경모세포를 인지하는데 NSE보다 예민한 것으로 추측되었다.

신경모세포종의 배수성 유형은 기왕의 보고에 의하면 이배수성에 비해 비배수성이 많고 이중 near-triploidy가 가장 많은 것으로 알려져 있으며, 비배수성인 경우 예후가 더 좋은 것으로 되어 있는데^{10,16} 본 연구에서의 배수성 유형 분포도 이에 상응하는 결과를 얻었다. 연구에 포함된 예의 수가 많지 않아 예후와의 연관성은 알 수 없었지만 분화형인 경우 8예중 7예, 미분화형인 경우 10예중 7예가 비배수성으로 통계학적 유의성은 없지만 분화형의 경우 비배수성이 좀 더 많은 경향을 보였다. 신경절신경종의 배수성 유형에

관한 보고는 신경모세포종과 함께 병행하여 시행한 산발적인 보고만이 있을 뿐인데¹⁹⁾, 본 연구에서는 53%가 이배수성, 47%가 비배수성으로 서로 비슷하였고 비배수성의 경우는 모두 DNA지수 1.2 미만의 near-diploidy였다. 한편 신경절신경종의 성숙형은 9예중 3예, 미성숙 부위를 갖는 예는 8예중 5예가 비배수성으로 통계학적 유의성은 없지만 미성숙 부위를 갖는 예에서 비배수성이 높은 경향을 보였으나 환자가 모두 생존하여 예후와의 연관성은 찾을 수 없었다. 지금까지 알려진 바에 의하면 비배수성 특히 near-triploidy가 높은 생존율과 질병 진행의 종결등 양호한 예후와 연관이 있으며 이는 임상적 인자 즉 영아에 발생하거나 임상 병기가 낮은 것에도 연관성이 있는 것으로 되어 있다. 이배수성인 경우 예후가 나쁜 것은 이것이 염색체 이상이나 N-myc 유전자의 증폭등 세포 유전학적 이상과 관련되어 있기 때문인 것으로 여겨진다^{10-14, 16)}. 본 연구에서는 비배수성 신경모세포종은 대부분이 DNA지수 1.2~1.9에 속하였고 이러한 경우 조직학적 분화도가 높은 경향이 있으며, 신경절신경종의 경우는 비배수성의 전 예가 near-diploidy이고 미성숙 부위를 갖는 경우 비배수성이 더 많은 경향을 보인 점에 비추어 신경모세포종과 신경절신경종은 공히 신경릉기원의 신경모세포에서 발생한 종양이나 종양형성기전이 다르며 신경모세포종이 자연적으로 또는 치료에 의하여 조직학적 분화와 성숙을 보이는 경우에 시간의 경과에 따른 비배수성 세포의 비율을 비교함으로써 클론 선택 또는 세포 퇴행의 가설을 뒷받침할 수 있으리라 생각되나 본 연구에서는 실시하지 못하였다. 또한 신경모세포종의 이배수성과 신경절신경종의 이배수성에도 배수성 유형은 동일하지만 세포 유전학적 이상의 유무에 차이가 있을 것으로 여겨지며 세포 유전학적 연구를 동반한 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

결 론

21예의 신경모세포종과 19예의 신경절신경종을 대상으로 조직학적 분류를 하고, 면역조직화학 염색과 유세포 분석을 시행한 결과, 첫째, NB-84는 미분화 및 분화형 신경모세포와 신경망에는 양성이었으나 성숙형 신경절세포에는 음성인 반면 NSE는 신경모세포, 신경망, 성숙형 신경절세포 및 슈반성 기질에도 양성이었으며 S-100 단백질은 슈반성 분화를 보이는 세포에만 양성되었고, 신경모세포종에서 NB-84에 양성인 세포의 수를 기준으로 나눈 등급과 비교하였을때 미분화형인 경우 양성인 세포의 수가 많은 경향을 보인 점으로 보아 NB-84에 의해서는 신경모세포기원 종양의 신경원성 분화, NSE에 의해서는 신경원성 및 슈반성 분화, S-100 단백질에 의해서는 슈반성 분화를 알 수 있고 이는 진단 및 조직학적 분화를 확인하는데 유용함

을 알 수 있었으며, 둘째, 신경모세포종은 분화형인 경우 비배수성이 많은 경향을 보인 반면 신경절신경종은 미성숙 부위를 갖는 경우 비배수성이 많은 경향을 보인 점으로 보아 신경모세포종과 신경절신경종의 배수성 유형에는 차이가 있음을 알 수 있었고, 신경절신경종에서 미분화 부위를 확인하는데 면역조직화학 염색과 배수성 검사가 유용하리라 생각되었다.

참 고 문 헌

- 1) Joshi vv, Cantor AB, Altshuler G, Larkin EW, Neill JA, Shuster JJ, Holbrook CT, Hayes FA, Nitschke R, Duncan MH, Shochat SJ, Talbert J, Smith EI, Castleberry RP. *Age-linked prognostic categorization based on a new histologic grading system of neuroblastomas. Cancer* 1992; 69: 2197-211.
- 2) Joshi vv, Cantor AB, Altshuler G, Larkin EW, Neill JA, Shuster JJ, Holbrook CT, Hayes FA, Nitschke R, Duncan MH, Shochat SJ, Talbert J, Smith EI, Castleberry RP. *Recommendations for modification of terminology of neuroblastic tumors and prognostic significance of Shimada classification: a clinicopathologic study of 213 cases from the Pediatric Oncology Group. Cancer* 1992; 69: 2183-96.
- 3) Brook FB, Raafat F, Eldeeb BB, Mann JR. *Histologic and immunohistochemical investigation of neuroblastoma and correlation with prognosis. Hum Pathol* 1988; 19: 879-88.
- 4) Carlsen NLT, Ornvold K, Christensen IJ, Laursen H, Larsen JK. *Prognostic importance of DNA flow cytometric, histopathological and immunohistochemical parameters in neuroblastomas. Virchows Archiv A Pathol Anat* 1992; 420: 411-8.
- 5) Oppedal BR, Storm-Mathisen I, Lie SO, Brandtzaeg P. *Prognostic factors in neuroblastoma: clinical, histologic, immunological features and DNA ploidy in relation to prognosis. Cancer* 1988; 62: 772-80.
- 6) Wirnsberger GH, Becker H, Ziervogel K, Hofler H. *Diagnostic immunohistochemistry of neuroblastic tumors. Am J Surg Pathol* 1992; 16: 49-57.
- 7) Chatten J, Shimada H, Sather HN, Wong KY, Siegel SE, Hammond GD. *Prognostic value of histopathology in advanced neuroblastoma. Hum Pathol* 1988; 19: 1187-98.
- 8) Evans AE, D'Angio GJ, Randolph J. *A proposed staging for children with neuroblastoma. Children's Cancer Staging Group A. Cancer* 1971; 27: 374.
- 9) Abramowsky CR, Taylor SR, Anton AH, Berk AI, Roederer M, Murphy RF. *Flow cytometric DNA*

- ploidy analysis and catecholamine secretion profiles in neuroblastoma. Cancer* 1989; 63: 1752-6.
- 10) Bourhis J, De Vathaire F, Wilson GD, Hartmann O, Terrier-Lasombe MJ, Boccon-Gibod L, McNally NJ, Lemerle J, Riou G, Benard J. *Combined analysis of DNA ploidy index and N-myc genomic content in neuroblastoma. Cancer Res* 1991; 51: 33-6.
 - 11) Bourhis J, Dominici C, McDowell H, Raschella G, Wilson G, Castello MA, Plouvier E, Lemerle J, Riou G, Benard J, Hartmann O. *N-myc genomic content and DNA ploidy in stage IVS neuroblastoma. J Clin Oncol* 1991; 9: 1371-5.
 - 12) Cohn SL, Rademaker AW, Salwen HR, Franklin WA, Gonzales-Crussi F, Rosen ST, Bauer KD. *Analysis of DNA ploidy and proliferative activity in relation to histology and N-myc amplification in neuroblastoma. Am J Pathol* 1990; 136: 1043-52.
 - 13) Look AT, Hayes FA, Shuster JJ, Douglass EC, Castleberry RP, Bowman LC, Smith EI, Brodeur GM. *Clinical relevance of tumor cell ploidy and N-myc gene amplification in childhood neuroblastoma: a Pediatric Oncology Group study. J Clin Oncol* 1991; 9: 581-91.
 - 14) Oppedal BR, Oien O, Jahnsen T, Brandtzaeg P. *N-myc amplification in neuroblastomas: histopathological, DNA ploidy, and clinical variables. J Clin Pathol* 1989; 42: 1148-52.
 - 15) Gansler T, Chatten J, Varello M, Bunin GR, Atkinson B. *Flow cytometric DNA analysis of neuroblastoma: correlation with histology and clinical outcome. Cancer* 1986; 58: 2453-8.
 - 16) Natio M, Iwafuchi M, Ohsawa Y, Uchiyama M, Hirota M, Matsuda Y, Iinuma Y. *Flow cytometric DNA analysis of neuroblastoma: prognostic significance of DNA ploidy in unfavorable group. J Pediatr Surg* 1991; 26: 834-7.
 - 17) Aoyama C, Qualman SJ, Regan M, Shimada H. *Histologic features of composite ganglioneuroblastoma. Cancer* 1990; 65: 255-64.
 - 18) Hachitanda Y, Tsuneyoshi M, Enjoji M. *Expression of pan-neoplastic proteins in neuroblastic tumors: an immunohistochemical study with neuron specific enolase, chromogranin, and synaptophysin. Arch Pathol Lab Med* 1989; 113: 381-4.
 - 19) Taylor SR, Blatt J, Costantino JP, Roederer M, Murphy RF. *Flow cytometric DNA analysis of neuroblastoma and ganglioneuroma. Cancer* 1988; 62: 749-54.
 - 20) Beckwith JB, Martin RF. *Observations on the histopathology of neuroblastomas. J Pediatr Surg* 1968; 3: 106-10.
 - 21) Headly DW, Friedlander ML, Taylor IW, Rugg CA, Musgrove FA. *Method for analysis of cellular DNA content of paraffin-embedded pathologic material using flow cytometry. J Histochem Cytochem* 1983; 31: 1333-5.
 - 22) Dehner LP. *Classic Neuroblastoma. Histopathologic grading as a prognostic indicator. Am J Pediatr Hematol Oncol* 1988; 10: 143-54.
 - 23) Gilbert F, Balaban G, Moorhead P, Bianchi D, Schlesinger H. *Abnormalities of chromosome 1P in human neuroblastoma tumors and cell lines. Cancer genetics and cytogenetics* 1982; 7: 33-42.
 - 24) Horn RC, Koop Ce, Kiesewetter WB. *Neuroblastoma in Childhood: Clinicopathologic study of forty-four cases. Lab Invest* 1956; 5: 106-9.
 - 25) Poore TN, Dockerty MB, Kennedy RLJ, Walters W. *Abdominal neuroblastomas. Surg Clin North Am* 1951; 31: 1124-41.
 - 26) Gitlow SE, Dziedzic LB, Strauss L. *Biochemical and histologic determinants in diagnosis of neuroblastoma. Cancer* 1973; 32: 898-905.
 - 27) Sanstedt B, Jereb G. *Prognostic factors in neuroblastomas. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand(A)* 1983; 91: 365-72.
 - 28) Shimada H, Chatten J, Newton WA, Sachs N, Hamoudi AB, Chiba T, Marsden HB, Misugi K. *Histologic prognostic factors in neuroblastic tumors: definition of subtype of ganglioneuroblastoma and an age-linked classification of neuroblastomas. JNCI* 1984; 73: 405-16.
 - 29) Thomas JO, Najjar J, Turley H, Micklem K, Gatter KC. *NB-84: a new monoclonal antibody for the recognition of neuroblastoma in routinely processed material. J Pathol* 1991; 136: 69-75.