

## 난소상피종양의 조직학적 양상과 증식세포핵항원의 발현 및 DNA 분석 소견과의 관계

연세대학교 의과대학 및 원주의과대학\* 병리학교실

이 상 엽 · 정 순 희\* · 이 광 길

### Correlation of Histologic Findings of Ovarian Epithelial Tumors with Expression of Proliferating Cell Nuclear Antigen and Flow Cytometric DNA Analysis

Sang Yeop Yi, M.D., Soon Hee Jung, M.D.\* and Kwang Gil Lee, M.D.

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

The prognosis of malignant ovarian tumor is poorer than that of borderline malignant ovarian tumor. Therefore an accurate diagnosis and estimation of the biologic behavior of the tumor are necessary for proper management of the patient. The histologic investigation of the tumor may provide information on the estimation of the malignant potential of tumor cells, but it may be a questionable method because of the subjective determination of tumor grade. Quantification of proliferative activity of tumor cells may play a role as an objective method to provide an estimation of the malignant potential of tumor cells. An evaluation of histologic findings was done on 84 cases of ovarian mucinous and serous tumors that were surgically resected and diagnosed during the period from January 1981 through July 1992. The proliferating cell nuclear antigen (PCNA) labelling index estimated from the immunohistochemical stain for PCNA and the S-phase fraction and proliferative index obtained from flow cytometric DNA analysis were assessed each other with histologic findings. The results are as follows: The presence of aneuploidy in malignant tumors was statistically significant as compared with benign tumors. The borderline malignant tumors showed no significant difference between the number of diploidy and aneuploidy. The PCNA labelling index, S-phase fraction and proliferative index tended to increase as the histologic grade of tumors went up. They were higher in malignant tumors than in others. The PCNA labelling index, S-phase fraction and proliferative index were higher in tumors with aneuploidy than in those with diploidy. In contrast to borderline malignant tumors, the PCNA labelling index in malignant tumors revealed a significant relation with the mitotic index. The S-phase fraction and proliferative index showed, in malignant tumors, a close correlation with the architectural grade and nucleolar grade, but not in borderline malignant tumors. Considering these results, the presence of aneuploidy, PCNA labelling index, S-phase fraction, and proliferative index are considered to be valuable data as a complementary prognostic factor of ovarian epithelial tumors. (**Korean J Pathol 1994; 29: 68~76**)

**Key Words:** Ovarian epithelial tumor, PCNA labelling index, DNA index, S-phase fraction, Proliferative index

## 서 론

난소의 표면상피세포종양(이하 상피종양)은 정상적으로 난소의 바깥 표면을 피복하는 상피에서 기원하며 세포종류에 따라서는 장액성, 점액성, 자궁내막모양 등으로, 예상되는 반응에 따라서는 양성, 경계성, 악성으로 분류된다. 그 중 악성종양은 부인과 영역에서 사망률이 높은 종양 중의 하나로 성장 속도가 빠르고 초기 증상이 없기 때문에 예후가 불량하다.

보고자에 따라서는 경계성 종양의 생존율을 91%에서 93%로, 악성 종양의 생존율을 34%로 보고하고 있고<sup>1,2)</sup>, 경계성 종양은 복강 내 병변이 있거나 종양 재발이 있어도 비교적 양호한 예후를 가지는 등 이들 사이에 예후가 크게 차이가 나기 때문에 정확한 진단과 예후예측이 환자의 치료 방침을 정하는 데 매우 중요하다<sup>3,4)</sup>.

악성 종양은 비정형 핵, 많은 유사분열, 중층, 복잡한 선구조, 유두상 분지, 그리고 기질 내 침윤의 특성을 보이나 경계성 종양은 정확한 기질 내 침윤이 없다. 그런데 점액성 종양의 경우와 같이 선과 기질이 복잡하게 상호작용하고 있는 경우는 기질 내 침윤을 알기 어려우므로, 비정형상피가 4층 이상인 경우는 기질 내 침윤이 불확실해도 악성 종양으로 진단해야 한다고 하였다<sup>5)</sup>. Bostwick 등은 점액성 종양의 경우 기질 내 침습이나 4층 이상의 세포 중첩이 없고, 복잡한 용모-선양 증식, 세포분열 또는 세포의 비정형성, 4층 미만의 세포중첩 중 어느 두 가지를 만족하면 점액성 경계성 종양으로 진단하고, 장액성 종양의 경우 기질 내 침습이 없고, 복잡한 분지 유두상 구조, 세포분열 또는 세포의 비정형성, 세포중첩, 미세유두상 상피중첩 중 어느 두 가지를 만족하면 장액성 경계성 종양으로 진단하자고 제안하였다<sup>3,6)</sup>. 그러나 상기한 이유와 같이 정확한 조직학적 진단에 어려움이 있고 주관적인 판독에 의존하기 때문에 개인간에 진단의 차이가 생길 수 있어서 종양의 정확한 악성 등급을 정하고 예후를 예측하는데 좀 더 객관적인 방법이 요구된다.

증식세포가 차지하는 부분을 정량화하는 것이 종양의 악성잠재력을 예견하는 객관적인 예후 측정 방법의 하나로 대두되어, 여러 종양에서 종양세포의 증식 능력과 종양의 악성도를 비교하여 종양의 생물학적 특성을 예견하려는 연구가 시도되고 있는데<sup>7,8)</sup> 유사분열수를 측정하는 법, [<sup>3</sup>H]-thymidine을 이용한 자가방사 기록법, halo-pyrimidine bromodeoxyuridine (BrdU)를 투여하여 측정하는 법, Ag-NOR수를 측정하는 법, Ki-67 항체나 증식세포핵항원(proliferating cell nuclear antigen, 이하 PCNA)을 이용한 면역조직화학염색법, 유세포측정기를 이용한 DNA 상태를 측정하는 법등이 있다<sup>9-12)</sup>.

합성기 연관 항원인 PCNA는 전신성 흥반성 낭창

환자에서 증식세포의 핵항원에 대한 자가항체를 혈청 내에서 발견하여 알려진 것으로 DNA 중합효소  $\delta$ 에 대한 보조단백질로 밝혀졌다<sup>16,17)</sup>. PCNA의 발현은 합성기에 가장 많이 나타나기 때문에 세포의 증식능력을 정량화 하는데 유용하게 쓰일 수 있으며, 항 PCNA 항체를 이용한 면역조직화학염색법은 증식세포의 핵항원을 단클론 항체를 이용하여 감지하는 것으로 파라핀 블록을 이용할 수 있어 후향적 연구가 가능하다는 장점이 있다<sup>7,10)</sup>. 난소종양에 대한 연구는 Ki-67을 이용한 연구가 있으나<sup>11,18,19)</sup>, PCNA를 이용한 연구는 아직 이루어지지 않고 있다.

난소종양의 유세포측정기를 이용한 DNA 분석 결과 비배수성 종양은 좀 더 높은 등급에 속하고 이배수성 종양에 비해 악성의 양상을 보여 유용한 예후 측정 방법으로 알려져 있고<sup>13-15)</sup>, 합성기 분획도 기준에 알려져 있는 예후인자와 의의있는 상관관계를 보이나<sup>11)</sup> 증식 지수의 유용성에 대해서는 확실히 밝혀져 있지 않다.

본 연구는 난소의 상피종양 중 점액성 및 장액성 종양에서 합성기 연관항원인 PCNA에 대한 면역조직화학염색을 통해 정량화한 발현지수와 유세포측정기를 이용한 DNA 분석에서 얻어진 합성기 분획 및 증식 지수를 서로 비교하고, 조직학적 소견과 비교하여 진단 및 예후 예측과의 관계를 알아보려고 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

1981년 1월부터 1992년 7월까지 연세대학교 원주의과대학 원주기독병원과 연세대학교 의과대학 세브란스병원에서 난소의 장액성 종양과 점액성 종양으로 진단 받은 예 중 파라핀 포매조직 이용이 가능했던 84 예를 대상으로 하였다.

### 2. 방 법

1) 조직학적 검사: 조직은 10% 중성 포르말린에 고정하고 파라핀에 포매한 뒤 통상의 과정을 거쳐 hematoxylin-eosin 염색을 시행하여 광학현미경으로 검색하였으며 세계보건기구의 기준에 따라 장액성 및 점액성 종양으로, 그리고 각각을 양성, 경계성 및 악성 종양으로 분류하고 다음과 같은 조직학적 특성을 관찰 하였다.

구조적 등급은 고형성 부분이 종괴의 5% 미만인 경우를 등급 1로, 5% 이상 50% 미만인 경우를 등급 2로, 50% 이상인 경우를 등급 3으로 하였다. 핵 등급은 크기, 모양, 염색질 분포가 균일하면 등급 1로, 크기, 모양의 변이가 심하고 염색질 분포가 농축되고 덩어리를 형성한 경우를 등급 3으로 하며, 그 중간을 등급 2로 하였다. 핵소체 등급은 핵소체가 작고, 균일하

## 결 과

면 등급 1로, 크고 불규칙하면 등급 3으로 하며, 그 중간을 등급 2로 하였다. 10개의 고배율시야에서 관찰한 총 유사분열수를 유사분열 지수로 하였다.

**2) 면역조직화학적 검사:** 10% 중성포르말린에 고정되어 파라핀에 포매된 조직 블록 중 조직학적 검사를 통해 병변을 대표할 만한 블록을 선정하여 5µm 두께로 박절하고 통상의 탈 파라핀 및 탈수과정을 거친 뒤, 30배로 희석한 항 PCNA 마우스 항체(DAKO, Santa Babara, CA, USA)를 일차항체로 하여 LSAB-kit(DAKO, Santa Babara, CA, USA)를 이용하여 염색하였으며, peroxidase chromogen kit(Biomed, AEC, Foster, CA, USA)로 발색시킨 뒤 Meyer hematoxylin으로 대조 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

PCNA 발현지수 중 PCNAmax는 PCNA에 가장 많이 염색된 병변의 한 고배율시야에서 관찰한 종양세포 중 PCNA에 발현된 세포의 수를 백분율로 표시하였고, PCNAave는 균일하게 염색된 병변에서 1000개의 종양세포 중 PCNA에 발현된 세포의 수를 백분율로 표시하였다.

**3) 유세포측정기를 이용한 DNA 분석:** 면역조직화학적 검사를 시행한 동일한 파라핀 포매 블록에서 100µm 두께의 절편을 만들어 통상의 탈 파라핀 및 합수과정을 거쳐서 phosphate buffered saline 완충액(pH 7.4, 0.1M)으로 세척하고 0.4% pepsin(Sigma, St. Louis, MO, USA) 용액에 30분간 부유시킨 뒤, 세포부유액을 45µm 구경의 나일론 망을 통해 여과시키고, 유리세포수가 1~3×10<sup>6</sup>/ml가 되도록 조정하였다. RNase, 2.5 mg/ml(Sigma, St. Louis, MO, USA)로 처리하고, propidium iodide(Sigma, St. Louis, MO, USA)로 염색한 뒤, FACScan(Becton Dickinson, San Jose, CA, USA)을 이용하여 DNA 분석을 하였다. 첫번째 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> peak를 이배수성으로 간주하고 DNA 지수를 1.00으로 정하였으며, 이배수성 영역의 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> peak 외에 다른 peak가 있을 때 비배수성으로 하여, 이때 x축의 channel값을 이배수성의 x축 channel값으로 나누어 DNA 지수를 구하였다. 증식 지수는 합성기 분획과 G<sub>2</sub> 및 유사분열 분획을 더하여 계산하였다.

**4) 통계학적 분석:** 통계학적 처리는 IBM-PC의 SPSS/PC+ 프로그램을 이용하여 진단과 조직학적 검색소견의 비교 및 DNA 배수성과 PCNA 발현지수, 합성기 분획, 증식 지수를 비교하는 경우는 가설검정을, 조직학적 진단과 PCNA 발현지수, 합성기 분획, 증식 지수를 비교하는 경우는 분산분석과 Duncan 다중비교를, 조직학적 진단과 DNA 배수성을 비교하는 경우는 X<sup>2</sup>-검정, 각 인자들 간의 상관관계를 구하는 경우는 순위상관 검정(Spearman's rank correlation)을 시행하였다.

### 1. 환자의 연령분포

환자의 연령은 16세부터 76세까지 분포하였으며 평균 43.1±14.7세였고, 양성 종양이 43.5±12.9세, 경계성 종양이 41.0±16.5세, 악성 종양이 44.3±13.4세로 각 진단간에는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다. 점액성 종양은 평균 40.3±15.3세, 장액성 종양은 평균 46.2±12.7세였으나 통계학적으로 유의한 차이는 없었으며, 다만 악성 장액성 종양(48.3±12.0세)이 악성 점액성 종양(36.1±12.6)에 비해 나이가 많았고 통계학적으로 유의한 차이가 있었다.

### 2. 조직학적 진단에 따른 분류

진단은 양성 종양이 10예(점액성: 8, 장액성: 2), 경계성 종양이 27예(점액성: 20, 장액성: 7), 악성 종양이 47예(점액성: 15, 장액성: 32)였다.

### 3. 조직학적 검색 소견

악성 종양의 경우 구조적 등급, 핵 등급, 핵소체 등급 및 유사분열 지수가 모두 경계성 종양에 비하여 크며 통계학적으로 유의한 차이를 보였다(p<0.05)

**Table 1.** Histologic evaluation of borderline and malignant ovarian neoplasms

Histology	Borderline neoplasm	Malignant neoplasm
Architectural grade	1.2±0.4	2.1±0.7*
Nuclear grade	2.0±0.2	2.7±0.5*
Nucleolar grade	1.7±0.6	2.6±0.5*
Mitotic index	4.9±5.1	26.3±20.7*

\* p<0.05 when compared with borderline neoplasms

**Table 2.** Flow cytometric DNA ploidy pattern of benign, borderline, and malignant ovarian neoplasms

	Number of diploid	Number of aneuploid
Benign	7	3
Borderline	10	8
Malignant	9	31
Total	26	42

p<0.05

(Table 1).

#### 4. 조직학적 진단과 DNA 배수성과의 관계

DNA 배수성은 이배수성이 26예, 비배수성이 42예이었다. 양성 종양의 경우는 이배수성이, 악성종양의 경우는 비배수성이 더 많았으며, 통계학적으로 유의한 차이를 보였다( $p < 0.05$ )(Table 2).

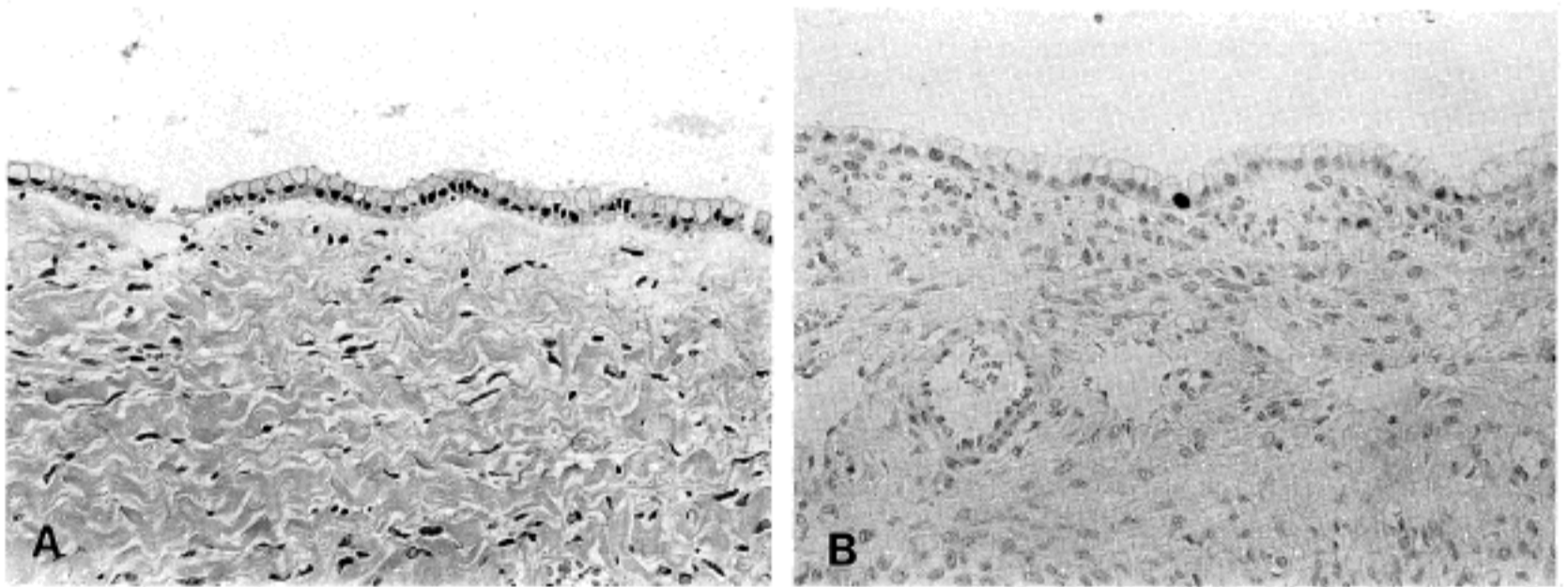
#### 5. PCNA 발현지수

PCNA 발현지수는 양성 종양에서 악성 종양으로 갈수록 증가하는 경향을 보였으며(Fig. 1~3), 악성 종

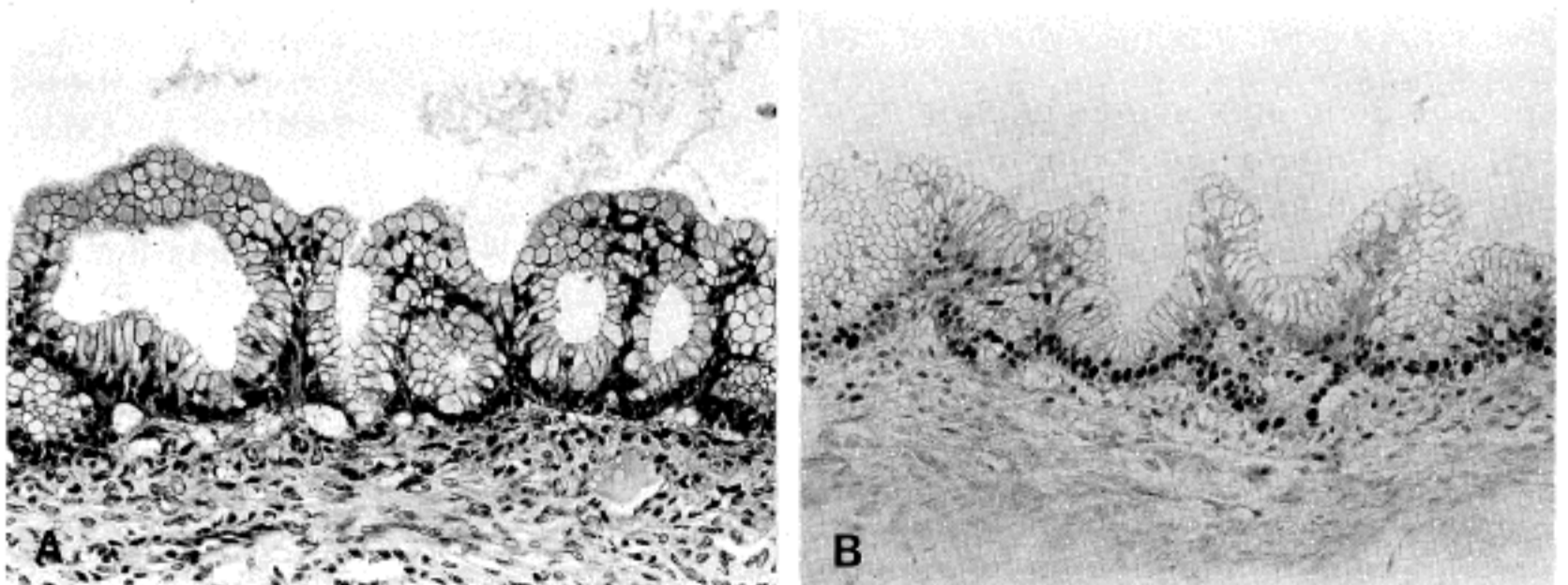
양의 발현지수는 양성 및 경계성 종양의 발현지수보다 크고 통계학적으로 유의하였다( $p < 0.05$ )(Table 3). 양성종양과 경계성 종양 사이에는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다.

PCNA 발현지수는 비배수성에서 이배수성보다 크며 통계학적으로 유의하였다( $p < 0.05$ )(Table 4).

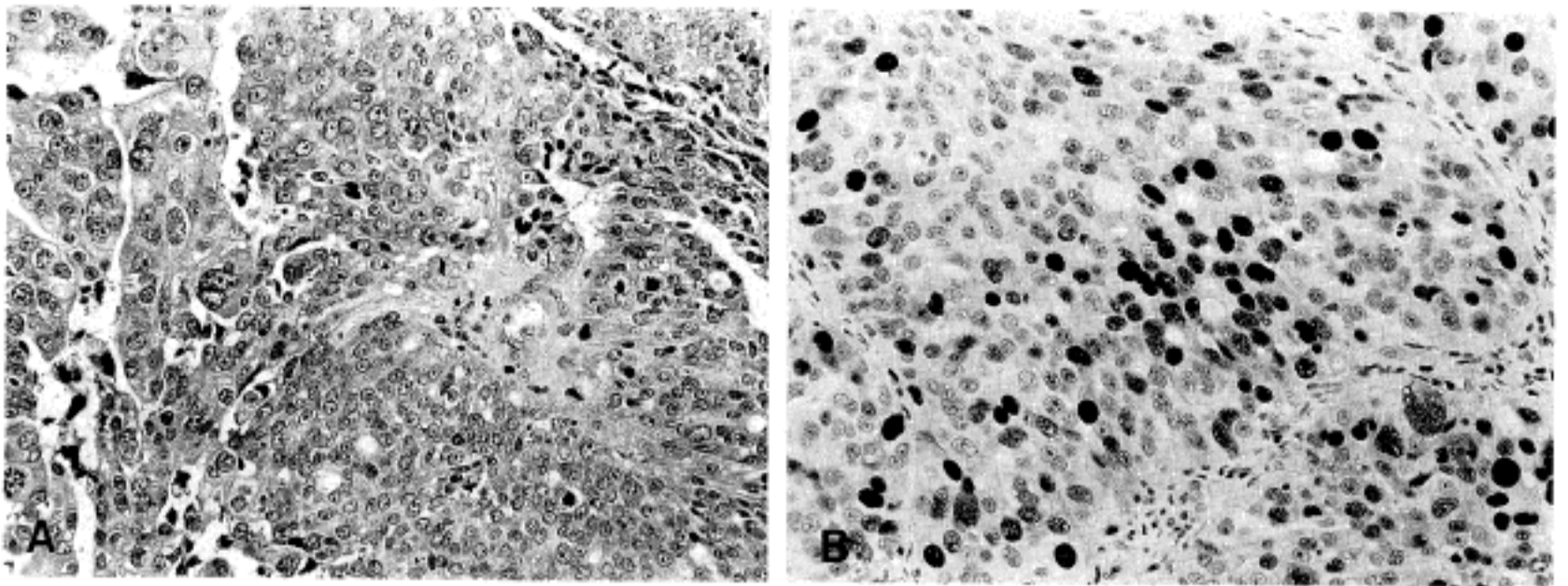
이배수성 종양을 양성, 경계성, 악성 종양으로 구분하여 비교하였을 때, PCNAmax는 이배수성 양성 종양( $8.9 \pm 7.3$ )이 이배수성 악성 종양( $25.8 \pm 13.6$ ) 및 이배수성 경계성 종양( $18.9 \pm 5.5$ )보다 작고, PCNAave는 이배수성 악성 종양( $15.4 \pm 7.0$ )이 이배수성 양성 종양( $4.9 \pm 3.4$ ) 및 이배수성 경계성 종양( $9.7 \pm 2.3$ )보



**Fig. 1.** Mucinous cystadenoma lined by single layer of columnar epithelium with mucinous cytoplasm and basally located nuclei. B. Immunohistochemical stain for proliferating cell nuclear antigen showing a stained nucleus.



**Fig. 2.** Mucinous tumor of borderline malignancy showing papillary projection of proliferated atypical epithelial cells. B. Many basally located nuclei reveal positive reaction for PCNA.



**Fig. 3.** Serous adenocarcinoma composed of multilayered neoplastic cells showing large pleomorphic nuclei and prominent nucleoli with numerous atypical mitoses. B. Strong PCNA staining in numerous scattered nuclei.

**Table 3.** PCNA labelling index, S-phase fraction and proliferative index of benign, borderline, and malignant ovarian neoplasms

	PCNAmax	PCNAave	S-phase fraction	Proliferative index
Benign	9.6 ± 9.3 (2.8~22.3)	5.2 ± 2.9 (0.7~10.3)	4.9 ± 2.8 (1.9~11.6)	8.5 ± 3.0 (3.9~14.8)
Borderline	17.5 ± 6.3 (5.9~34.0)	9.3 ± 2.1 (3.9~15.2)	5.4 ± 2.9 (2.7~11.6)	11.4 ± 4.0 (6.3~20.9)
Malignant	35.6 ± 15.8* (10.6~69.8)	19.8 ± 8.0* (7.9~40.3)	13.8 ± 6.5* (3.1~35.2)	22.4 ± 8.4* (8.7~49.7)

Values are expressed as mean ± S.D., ( ): range

\* p < 0.05 when compared with benign and borderline neoplasms

다 크며, PCNAmax와 PCNAave 모두 통계학적으로 유의한 차이가 있었다(p < 0.05).

이배수성 종양을 양성, 경계성, 악성 종양으로 구분하여 비교하였을 때, PCNAmax는 비배수성 악성 종양(38.2 ± 15.3)이 비배수성 양성 종양(11.3 ± 3.8) 및 비배수성 경계성 종양(15.9 ± 8.3)보다 크고, PCNAave는 비배수성 악성 종양(21.1 ± 7.4)이 비배수성 양성 종양(6.1 ± 1.7) 및 비배수성 경계성 종양(9.6 ± 2.0)보다 크며, PCNAmax와 PCNAave 모두 통계학적으로 유의한 차이가 있었다(p < 0.05).

PCNA 발현지수 중 PCNAave는 장액성 종양(17.1 ± 8.5)에서 점액성 종양(12.3 ± 7.9)보다 크고, 양성, 경계성, 악성 종양으로 구분한 뒤 점액성과 장액성에 대하여 비교한 결과, PCNAmax는 점액성 경계성 종양(18.9 ± 6.3)이 장액성 경계성 종양(13.5 ± 4.3)보다 크며 통계학적으로 유의한 차이를 보였다(p < 0.05).

### 6. 합성기 분획 및 증식 지수

합성기 분획 및 증식 지수는 양성 종양에서 악성 종

양으로 갈수록 증가하는 경향을 보였으며, 악성 종양의 경우 양성 및 경계성 종양보다 크고 통계학적으로 유의하였다(p < 0.05)(Table 3). 양성 종양과 경계성 종양 사이에는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다.

합성기 분획 및 증식 지수는 비배수성에서 이배수성보다 크며 통계학적으로 유의하였다(p < 0.05)(Table 4).

이배수성 종양을 양성, 경계성, 악성 종양으로 구분하여 비교하였을 때, 합성기 분획은 이배수성 악성 종양(10.1 ± 5.1)이 이배수성 양성 종양(5.6 ± 3.0) 및 이배수성 경계성 종양(4.8 ± 2.5)보다 크고, 증식 지수는 이배수성 악성 종양(18.3 ± 5.8)이 이배수성 양성 종양(9.3 ± 2.8) 및 이배수성 경계성 종양(10.7 ± 4.6)보다 크며, 합성기 분획과 증식지수는 모두 통계학적으로 유의한 차이가 있었다(p < 0.05).

비배수성 종양을 양성, 경계성, 악성 종양으로 구분하여 비교하였을 때, 합성기 분획은 비배수성 악성 종양(15.0 ± 6.5)이 비배수성 양성 종양(3.1 ± 1.1) 및 비배수성 경계성 종양(6.3 ± 3.3)보다 크고, 증식 지수는

**Table 4.** PCNA labelling index, S-phase fraction, and proliferative index of flow cytometric DNA ploidy pattern of ovarian neoplasms

	PCN Amax	PCN Aave	S-phase fraction	Proliferative index
Diploid	18.6±11.3(2.8~43.1)	10.4±6.2(0.7~25.6)	6.9±4.3(2.0~18.5)	12.9±6.0(5.9~25.9)
Aneuploid	32.0±17.2*(7.0~69.8)	17.8±8.5*(4.5~37.1)	12.4±7.2*(1.9~35.2)	20.2±9.7*(3.9~49.7)

Values are expressed as mean±S.D., ( ): range

\* p<0.05 when compared with diploid neoplasm

**Table 5.** Correlation coefficients of PCNA labelling index, S-phase fraction, proliferative index, and histologic prognostic factor of borderline and malignant ovarian neoplasms

	Borderline				Malignant			
	PCN Amax	PCN Aave	SPF	PI	PCN Amax	PCN Aave	SPF	PI
S-phase fraction	.32	.40*	-	.78*	.68*	.53*	-	.84*
Proliferative index	.12	.17	.78*	-	.38	.33	.84*	-
DNA index	.36*	.38*	.11	.12	.53*	.44	.53*	.27
Architectural grade	.15	.24	.41*	.36*	.27	.18	.27	.23
Nuclear grade	.06	.09	.30	.21	.15	.25	.27	.14
Nucleolar grade	.17	.24	.36*	.43*	.07	.02	.28	.29
Mitotic index	.54*	.58*	.49*	.24	.11	.30	.55*	.41

SPF=S-phase fraction, PI=Proliferative index

\* p<0.05

비배수성 악성 종양(23.8±8.7)이 비배수성 양성 종양(6.6±2.9) 및 비배수성 경계성 종양(12.5±2.9)보다 크며, 합성기 분획과 증식지수는 모두 통계학적으로 유의한 차이가 있었다(p<0.05).

합성기 분획은 장액성 종양(11.9±7.9)에서 점액성 종양(7.9±4.2)보다, 증식 지수는 장액성 종양(20.6±10.2)에서 점액성 종양(13.2±5.5)보다 크며 통계학적으로 유의하였다(p<0.05). 종양을 양성, 경계성, 악성 종양으로 구분한 뒤 점액성과 장액성에 대하여 비교한 결과, 증식지수는 장액성 악성 종양(24.0±9.2)이 점액성 악성 종양(18.3±3.4)보다 크며, 통계학적으로 유의한 차이를 보였다(p<0.05).

### 7. 각 인자들 사이의 상관관계

악성 종양에서 PCNA 발현지수는 DNA 지수 및 유사분열 지수와 상관관계를 보였으며, 합성기 분획은 증식 지수, 구조적 등급, 핵소체 등급, 유사분열 지수와 상관관계를 보였고, 증식 지수는 합성기 분획, 구조적 등급, 핵소체 등급과 상관관계를 보였다. 경계성 종양으로 PCNA 발현지수는 DNA 지수와 상관관계를 보였으며, 합성기 분획은 증식 지수, DNA 지수, 유사분열 지수와 상관관계를 보였고, 증식 지수는 합성기 분획과 상관관계를 보였다.

악성 종양의 경우 경계성 종양과는 달리 PCNA 발현지수는 특히 유사분열 지수와 상관관계가 있고, 합성기 분획 및 증식 지수는 특히 구조적 등급 및 핵소체 등급과 유의있는 상관관계를 보였다(p<0.05)(Table 5).

### 고 찰

난소의 상피종양 중 악성 종양과 경계성 종양은 예후가 크게 차이나기 때문에 정확한 진단과 예후 예측이 환자의 치료방침을 정하는데 매우 중요하며, 생존을 예측에 도움이 되는 인자로는 진단당시의 FIGO(International Federation of Gynecology and Obstetrics) 병기<sup>20-23)</sup>, 간존 종양의 양<sup>20-22, 24)</sup>, 조직학적 분류<sup>20-22)</sup>, 조직학적 등급<sup>20-22, 24, 25)</sup>, DNA 배수성<sup>15, 20-22)</sup> 등이 있다. 그러나 명확한 진단기준이 있음에도 불구하고 기질 내 침윤이 명백하게 확인되지 않는 경우 경계성 종양과 악성 종양을 구분하는 것이 어렵고 주관적인 판독에 의존해야 하기 때문에 개인간에 진단의 차이가 발생할 수 있어, 종양의 정확한 악성 등급을 정하는데 좀 더 객관적인 방법이 요구되어 종양에서 증식하는 세포가 차지하는 부분을 정량화하는 방법이 객관적인 예후 측정 방법의 하나로 대두되고 있다.

종양세포 증식능력의 정량화는 종양의 악성 잠재력을 인지하는 객관적인 방법으로 알려져 있다. 면역조직화학염색을 이용한 증식능력의 정량화 중 PCNA를 이용하는 방법은 폐, 간, 위, 피부, 방광등 많은 장기의 악성 종양을 대상으로 연구가 진행되고 있는데<sup>26-30)</sup> 난소상피종양을 대상으로한 유사한 연구로 Ki-67을 이용한 연구에서 Ki-67이 발현되는 정도는 악성 종양의 경우 양성 및 경계성 종양보다 유의하게 높았으며<sup>11)</sup>, 진행된 임상병기 및 환자의 생존율과 연관되어 있었다<sup>19)</sup>. 본 연구에서도 PCNA 발현지수는 악성으로 갈수록 증가하는 경향을 보였으며 악성 종양이 양성 및 경계성 종양보다 크고 비배수성이 이배수성보다 크며 통계학적으로 유의하였으나, 서로 중복되는 범위가 넓기 때문에 PCNA 발현지수를 양성, 경계성 및 악성종양의 진단기준으로 단독 이용하기에는 적합하지 않은 것으로 생각된다.

난소상피종양에서 유세포측정기를 이용한 DNA 분석결과는 유용한 예후 추정인자로 사용되며, 비배수성 종양은 이배수성 종양에 비해 좀 더 높은 등급에 속하고 좀 더 나쁜 임상경과를 취한다고 보고되어 있다<sup>31,32)</sup>. 본 연구에서도 양성 종양의 경우 이배수성이 7예, 비배수성이 3예로, 악성종양의 경우 이배수성이 9예, 비배수성이 31예로 나타나 보고된 결과들과 같은 양상을 보였다. 대부분의 경계성 종양은 이배수성이라고 보고되어 있으나<sup>33,34)</sup> 파라핀 포매 조직을 이용한 경우에는 신선조직에 비해 비배수성의 빈도가 높은 경향이 있어 64예 중 34.4%로 보고한 예도 있으며<sup>35)</sup> 본 연구에서도 경계성 종양은 이배수성이 10예, 비배수성이 8예로 비배수성이 높은 빈도를 보였다. 경계성 종양에서 비배수성은 진행된 임상병기나 나쁜 예후와 관련되었다는 보고도 있으나 아직까지 경계성 종양에 대한 연구자료가 너무 적어 DNA양 및 DNA양의 생물학적 특성을 명확하게 밝혀 내지는 못하고 있다.

DNA 분석을 통한 합성기 분획의 측정은 활발히 증식하는 세포의 부분을 인지하는 정밀한 방법으로<sup>36)</sup> 난소암, 유방암, 대장암, 비소세포 폐암등에 유용한 예후인자로 밝혀져 있다<sup>19,37,38)</sup>. 본 연구에서는 합성기 분획뿐만 아니라 증식지수도 악성으로 갈수록 증가하는 경향을 보였으며 악성 종양이 양성 및 경계성 종양보다 크고, 비배수성이 이배수성보다 크며, 통계학적으로 유의하였다.

점액성 악성 종양은 조직학적 등급과 병기가 낮은 경향을 보이고, 장액성 악성 종양은 조직학적 등급과 병기가 높은 경향을 보인다<sup>39)</sup>. 본 연구에서는 악성 종양의 경우 장액성 종양의 증식지수가 점액성 종양의 증식지수보다 통계학적으로 유의하게 높았으나, PCNAave 및 합성기 분획은 양자간에 차이가 없었다.

보고된 바로는 Ki-67 발현정도는 구조적 등급, 핵소체 등급, 유사분열 지수, DNA 배수성과 상관관계

를 보인다<sup>11,18,19)</sup>. 본 연구에서 시행한 PCNA 발현지수도 악성 종양에서 PCNAmax는 DNA 지수 및 유사분열 지수와 상관관계를 보였고, PCNAave는 합성기 분획, DNA 지수 및 유사분열 지수와 상관관계를 보였으며, 경계성 종양에서는 PCNAmax가 합성기 분획 및 DNA 지수와 상관관계를 보이고 PCNAave는 합성기 분획과 상관관계를 보여, 악성 종양의 경우 경계성 종양과는 달리 PCNAmax 및 PCNAave가 특히 유사분열 지수와 유의있는 상관관계를 보임을 알 수 있었다.

합성기 분획은 병기, DNA 배수성, 핵 등급, 유사분열수등 이미 알려져 있는 예후인자와 상관관계를 보였다<sup>11,19,22,40,41)</sup>. 본 연구에서는 합성기 분획 외에도 증식지수를 새로이 비교하였다. 악성 종양에서 합성기 분획은 증식 지수, 구조적 등급, 핵소체 등급, 유사분열 지수와 상관관계를 보였고, 증식 지수는 합성기 분획, 구조적 등급, 핵소체 등급과 상관관계를 보였으며, 경계성 종양에서 합성기 분획은 증식 지수, DNA 지수, 유사분열 지수와 상관관계를 보이고, 증식 지수는 합성기 분획과 상관관계를 보여, 악성 종양의 경우 경계성 종양과는 달리 합성기 분획 및 증식 지수가 특히 구조적 등급 및 핵소체 등급과 유의있는 상관관계를 보임을 알 수 있었다.

난소상피종양에서 악성 종양의 경우 경계성 종양과는 달리 비배수성이 현저히 많고 PCNA 발현지수, 합성기 분획 및 증식 지수는 종양의 악성도에 따라 증가하는 경향을 보이고, 악성 종양에서 경계성 종양에 비하여 높으며, PCNA 발현지수는 유사분열 지수와 상관관계가 있고, 합성기 분획 및 증식 지수는 구조적 등급 및 핵소체 등급과 유의있는 상관관계를 보였다. 따라서 비배수성 여부, PCNA 발현지수, 합성기 분획 및 증식지수의 측정이 객관적인 방법이며 기존에 알려져 있는 예후인자와 상관관계를 보이므로, 이들 수치가 난소상피종양에서 병리학적 조직 및 임상적 변수의 보완적 예후인자로서 유용한 자료가 될 것으로 생각된다. 또한 경계성 종양에서 이들 수치가 높게 나타날 경우 예후가 나쁜 것으로 예견되므로 환자의 치료 및 추적 관찰에 좀 더 많은 관심을 보여야 하며, 정확한 예후인자로서의 가치를 알아보기 위해서는 생존율과의 관계에 대한 연구가 보완되어야 할 것으로 생각된다.

## 결 론

난소의 장액성 또는 점액성 종양 중 84예를 대상으로, 합성기 연관항원인 PCNA에 대한 면역조직화학염색을 통해 정량화한 발현지수와 유세포측정기를 이용한 DNA 분석에서 얻어진 합성기 분획 및 증식 지수를 서로 비교하고, 조직학적 소견과 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

악성 종양은 양성 종양과 비교시 비배수성이 많았으

나, 경계성 종양에서 이배수성과 비배수성의 수는 큰 차이가 없었다. PCNA 발현지수, 합성기 분획 및 증식 지수는 악성도가 높을수록 증가하는 경향을 보였으며, 악성 종양에서 양성 및 경계성 종양보다 높았고, 이배수성보다 비배수성에서 더 높았다. 악성 종양에서 PCNA 발현지수는 경계성 종양에 비해 특히 유사분열 지수와 유의있는 상관관계를 보였으며, 합성기 분획 및 증식지수는 특히 구조적 등급 및 핵소체 등급과 유의있는 상관관계를 보였다.

이상의 결과를 종합하면 난소상피종양에서 비배수성 여부, PCNA 발현지수, 합성기 분획 및 증식지수는 보완적 예후인자로서 유용한 자료가 될 것으로 생각된다.

### 참 고 문 헌

- 1) Nikrui N. Survey of clinical behavior of patients with borderline epithelial tumors of the ovary. *Gynecol Oncol* 1981; 12: 107-19.
- 2) Björkholm E, Pettersson F, Einhorn N, Krebs I, Nilsson B, Tjernberg B. Long-term follow-up and prognostic factors in ovarian carcinoma. *Acta Radiol(Oncol)* 1982; 21: 413-9.
- 3) Hart WR. Ovarian epithelial tumors of borderline malignancy (Carcinomas of low malignant potential). *Hum Pathol* 1977; 8: 541-9.
- 4) Massad LS Jr, Hunter VJ, Szpak CA, Clarke-Pearson DL, Creasman WT. Epithelial ovarian tumors of low malignant potential. *Obstet Gynecol* 1991; 78: 1027-32.
- 5) Hart WR, Norris HJ. Borderline and malignant mucinous tumors of the ovary. *Cancer* 1973; 31: 1031-45.
- 6) Bostwick DG, Tazelaar HD, Ballon SC, Hendrickson MR, Kempson RL. Ovarian epithelial tumors of borderline malignancy. *Cancer* 1986; 58: 2052-65.
- 7) Garcia RL, Gown AM. Analysis of proliferative grade using anti PCNA/cyclin monoclonal antibodies in formalin fixed, paraffin embedded tissues. Comparison with flow cytometric analysis. *Am J Pathol* 1989; 134: 733-9.
- 8) Hall PA, Levison DA, Yu CCW, Kellock DB, Watkins JA. Proliferating cell nuclear antigen(PCNA) immunolocalization in paraffin sections: an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. *J Pathol* 1990; 162: 285-94.
- 9) Dierendonck JH, Wijsman JH, Keijzer R, Velde CJH, Cornelisse CJ. Cell-cycle-related staining patterns of anti-proliferating cell nuclear antigen monoclonal antibodies. *Am J Pathol* 1991; 138: 1165-72.
- 10) Dervan PA, Magee HM, Carney DN. Proliferating cell nuclear antigen counts in formalin-fixed paraffin-embedded tissues correlate with Ki-67 in fresh tissues. *Am J Clin Pathol* 1992; 97: 21-8.
- 11) Huettner PC, Weinberg DS, Lage JM. Assessment of proliferative activity in ovarian neoplasms by flow and static cytometry. Correlation with prognostic features. *Am J Pathol* 1992; 141: 699-706.
- 12) Yu CCW, Woods AL, Levison DA. The assessment of cellular proliferation by immunocytochemistry; a review of currently available methods and their applications. *Histochemical J* 1992; 24: 121-31.
- 13) Erhardt K, Auer G, Björkholm E, Forslund G, Boberger B, Silfverswärd C, Wicksell G, Zetterberg A. Combined morphologic and cytochemical grading of serous ovarian tumors. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151: 356-61.
- 14) Feichter GE, Kuhn W, Czernobilsky B, Muller A, Heep J, Abel U, Haag D, Kaufmann M, Rummel HH, Kubli F, Goertler K. DNA flow cytometry of ovarian tumors with correlation to histopathology. *Int J Gynecol Pathol* 1985; 4: 336-45.
- 15) Rodenburg CJ, Cornelisse CJ, Heintz PAM, Hermans JO, Fleuren GJ. Tumor ploidy as a major prognostic factor in advanced ovarian cancer. *Cancer* 1987; 59: 317-23.
- 16) Miyachi K, Fritzier MJ, Tan EM. Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. *J Immunol* 1978; 121: 2228-34.
- 17) Bravo R, Frank R, Blundell PA, Macdonald-Bravo H. Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase- $\delta$ . *Nature* 1987; 326: 515-7.
- 18) Wong WSF, Tattersall MHN. Immunohistochemical determination of tumour growth fraction in human ovarian carcinoma. *Br J Obstet Gynecol* 1989; 96: 720-4.
- 19) Isola J, Kallioniemi OP, Korte JM, Wahistrom T, Aine R, Helle M, Helin H. Steroid receptors and Ki-67 reactivity in ovarian cancer and in normal ovary: Correlation with DNA flow cytometry, biochemical receptor assay, and patient survival. *J Pathol* 1990; 162: 295-301.
- 20) Aure JC, Hoeg K, Kolstad P. Clinical and histologic studies of ovarian carcinoma: Long-term follow-up of 990 cases. *Obstet Gynecol* 1971; 37: 1-9.
- 21) Sigurdsson K, Alm P, Gullberg B. Prognostic factors in malignant epithelial ovarian tumors. *Gynecol Oncol* 1983; 15: 370-80.
- 22) Kallioniemi OP, Punnonen R, Mattila J, Lehtinen M, Koivula T. Prognostic significance of DNA index, multiploidy, and S-phase fraction in ovarian cancer. *Cancer* 1988; 61: 334-9.



- 23) Kim SN, Park TK. *Epithelial ovarian carcinoma: Analysis of prognostic factors. Yonsei Med J* 1988; 29: 244-51.
- 24) Swenerton KD, Hislop TG, Spinelli J, LeRiche JC, Yang N, Boyes DA. *Ovarian carcinoma: A multivariate analysis of prognostic factors. Obstet Gynecol* 1985; 65: 264-70.
- 25) Sorbe B, Frankendal BO, Veress B. *Importance of histologic grading in the prognosis of epithelial ovarian carcinoma. Obstet Gynecol* 1982; 59: 576-82.
- 26) Thaete LG, Ahnen DJ, Malkinson AM. *Proliferating cell nuclear antigen(PCNA/cyclin) immunocytochemistry as a labelling index in mouse lung tissue. Cell Tissue Res* 1989; 256: 167-73.
- 27) Woods AL, Hall PA, Shepherd NA, Hanby AM, Waseem NH, Lane DP, Levison DA. *The assessment of proliferating cell nuclear antigen(PCNA) immunostaining in primary gastrointestinal lymphomas and its relationship to histological grade, S+G2+M phase fraction and prognosis. Histopathology* 1991; 18: 21-7.
- 28) Kawakita N, Seki S, Yanai A, Sakaguchi H, Kuroki T, Mizoguchi Y, Kobayashi K, Monna T. *Immunocytochemical identification of proliferative hepatocytes using monoclonal antibody to proliferating cell nuclear antigen(PCNA/cyclin). Am J Clin Pathol* 1992; 97: 14-20.
- 29) Lipponen PK, Eskelinen MJ. *Cell proliferation of transitional cell bladder tumours determined by PCNA/cyclin immunostaining and its prognostic value. Br J Cancer* 1992; 66: 171-6.
- 30) Penneys NS, Bogaert M, Serfling U, Sisto M. *PCNA expression in cutaneous keratinous neoplasms and verruca vulgaris. Am J Pathol* 1992; 141: 139-42.
- 31) Friedlander ML, Hedley DW, Taylor IW, Russel P, Coates AS, Tattersall MHN. *Influence of cellular DNA content on survival in advanced ovarian cancer. Cancer Res* 1984; 44: 397-400.
- 32) Rutgers DH, Wils IS, Schaap AHP, van Lindert ACM. *DNA flow cytometry, histological grade, stage, and age as prognostic factors in human epithelial ovarian carcinomas. Pathol Res Pract* 1987; 182: 207-13.
- 33) Friedlander ML, Russel P, Tayler W, Hedley DW, Tattersall MHN. *Flow cytometric analysis of cellular DNA content as an adjunct to the diagnosis of ovarian tumours of borderline malignancy. Pathology* 1984; 16: 301-6.
- 34) Iversen OE, Skaarland E. *Ploidy assessment of benign and malignant ovarian tumors by flow cytometry: A clinicopathologic study. Cancer* 1988; 60: 82-7.
- 35) Janne K, Claes T, Kjell EK, Vera A, Erik OP. *Cellular DNA contents as a new prognostic tool in patients with borderline tumors of the ovary. Gynecol Oncol* 1990; 38: 452-7.
- 36) Meyer JS, Coplin MD. *Thymidine labelling index, flow cytometric S-phase measurement, and DNA index in human tumors: comparisons and correlations. Am J Clin Pathol* 1988; 89: 586-95.
- 37) Tubiana M, Pejovic MH, Koscielny S, Chavaudra N, Malaise E. *Growth rate, kinetics of tumor cell proliferation and long-term outcome in human breast cancer. Int J Cancer* 1989; 44: 17-22.
- 38) Merkel DE, McGuire WL. *Ploidy, proliferative activity and prognosis: DNA flow cytometry of solid tumors. Cancer* 1990; 65: 1194-205.
- 39) Malkasian GD Jr, Melton LJ III, O'Brien PC, Greene MH. *Prognostic significance of histologic classification and grading of epithelial malignancies of the ovary. Am J Obstet Gynecol* 1984; 149: 274-82.
- 40) Christov K, Vassilev N. *Flow cytometric analysis of DNA and cell proliferation in ovarian tumors. Cancer* 1987; 60: 121-5.
- 41) Kallioniemi OP, Mattila J, Punnonen R, Koivula T. *DNA ploidy level and cell cycle distribution in ovarian cancer: Relation to histopathological features of the tumor. Int J Gynecol Pathol* 1988; 7: 1-11.