

갑상선 종양의 세포증식능에 관한 면역조직화학적 연구

전북대학교 의과대학 병리학교실

강명재 · 정영진 · 문우성 · 정명자
김주현 · 이동근 · 최호열 · 김상호

Immunohistochemical Study on the Proliferative Activity of Human Thyroid Tumors

Myoung Jae Kang, M.D., Young Jin Jeong, M.D. Woo Sung Moon, M.D. Myoung Ja Jeong, M.D.
Joo Heon Kim, M.D. Dong Geun Lee, M.D., Ho Yeul Choi, M.D. and Sang Ho Kim, M.D.

Department of Pathology, Chonbuk National University College of Medicine

For the estimation of the proliferative activity, related to the biologic behaviour, malignant potential, and prognosis, of human thyroid tumors, PCNA (proliferating cell nuclear antigen) immunohistochemical staining was performed on paraffin-embedded sections of 9 normal thyroid tissues, 9 adenomatous goiters, 9 follicular adenomas, 4 Hurthle cell tumors, 12 papillary carcinomas, 4 follicular carcinomas, and 3 anaplastic carcinomas.

The results were as follows:

1) The PCNA labeling indices in adenomatous goiter, follicular adenoma, and Hurthle cell tumor were 1.1, 1.5, and 2.4, respectively. They were significantly higher than the labeling index in normal thyroid.

2) The PCNA labeling indices in papillary carcinoma and follicular carcinoma were 3.5 and 4.4, respectively. They were significantly higher than the labeling indices in adenomatous goiter and follicular adenoma, but there was no significant difference between papillary and follicular carcinoma.

3) The PCNA labeling index in anaplastic carcinoma, 14.1, was significantly higher than those in benign and other malignant tumors.

According to the results, the PCNA labeling index was well correlated with the malignant potential of a tumor. So the PCNA immunohistochemical staining is thought to be a useful method for the evaluation of the malignant potential and prognosis of a tumor. (**Korean J Pathol 1995; 29: 77~84**)

Key Words: Proliferative activity, Thyroid tumor, Proliferating cell nuclear antigen, Immunohistochemical study

서 론

종양의 세포 증식능은 그 종양의 생물학적 특성, 치료 방법의 선택, 악성도 및 예후 판정에 중요한 인자

의 하나로 알려져 있다. 이러한 세포 증식능의 측정은 광학현미경하에서 유사분열 세포수를 세거나 시험관 내 조직배양을 실시하여 위상차 현미경으로 살아있는 세포를 관찰하는 등의 고식적인 방법이 사용되기도 하였다. 근래에는 3H-thymidine을 이용한 자동방사선 사진술이나 5-bromo and 5-iodo-deoxyuridine (BrdU) 흡수정도의 측정, 유세포측정기를 이용한 DNA양의 측정 및 Ki-67 반응성 항원을 이용한 측정 방법등이 이용되고 있다. 그러나, 이들 각각의 방법은

접 수: 1994년 5월 25일, 게재승인: 1994년 8월 24일
주 소: 전주시 덕진구 금암동 산 2-20, 우편번호 560-182
전북대학교 의과대학 병리학교실, 강명재

사용되는 조직이 신선해야 한다는 검체의 제한성, 비경제성, 위험성, 측정법의 복잡성 및 측정에 많은 시간이 소요되는 단점등을 가지고 있다.

활발하게 분열하는 세포들은 세포증식의 면역학적 연구에 유용한 항원의 표지자로 작용할 수 있는 다수의 독특한 단백을 생성한다. Cyclin¹⁾ 또는 DNA polymerase delta 보조단백^{2,3)}으로 알려져 있는 PCNA(proliferating cell nuclear antigen)는 SLE 환자의 혈청에 있는 자가항체를 통하여 확인되었다⁴⁾. PCNA는 세포증식 및 DNA 합성의 속도와 직접적인 상관관계가 있는 분자량 36KD의 nonhistone 핵 단백질로^{1,4)}, PCNA의 표현은 세포주기와 밀접한 관계가 있는데, 이는 G1 말기에 증가하기 시작하여 S기에 최대가 되고 G2와 M기에 다시 감소한다^{4,5)}. 그래서 PCNA가 세포주기의 G1/S기에 대한 내인성 조직학적 표지자로 확인되었고, 이것이 내인성 물질이기 때문에 다른 화학물질의 결합없이 어떤 특정 세포의 염색에 이용할 수 있게 되었다⁶⁾. PCNA에 대한 면역조직화학적 염색은 파라핀 포매조직으로 짧은 시간 동안에 시행할 수 있기 때문에 세포 증식능의 측정에 유용한 방법으로 이용된다.

갑상선에서 발생하는 양성 및 악성 종양성 병변은 다양하며 주요 악성 종양으로는 유두상 암종, 여포상 암종, 수질암종, 미분화 암종 및 편평상피암종이 있다. 양성 종양은 악성 종양에 비하여 그리고 유두상 및 여포상 암종은 수질암종, 미분화 암종 및 편평상피암종에 비하여 훨씬 양호한 임상적 경과를 취한다.

본 연구에서는 이미 진단이 내려진 갑상선의 종양성 병변을 대상으로 종양 구성 세포에서 PCNA 발현도를 측정하고, 발현도와 병변의 생물학적 양태와의 관계를 비교 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

본 연구에 이용된 재료로서는 1991년 1월부터 1992년 12월까지 전북대학교병원에서 외과적으로 절제된 갑상선조직을 질병의 종류에 따라 일부 또는 전부를 대상으로 하였다. 검체는 선종성 갑상선종 9예, 여포상 선종 9예, 허틀세포종(Hurthle cell tumor) 4예, 유두상 암종 12예, 여포상 암종 4예, 그리고 미분화 암종 3예였다(Table 1). 정상 대조군으로는 여포상 선종 주위의 갑상선 여포 구조가 잘 유지되고 있는 조직을 이용하였다. 이들은 통상적 방법인 포르말린 고정 및 파라핀 포매를 거쳐 H-E염색을 실시한 조직표본으로서 본 연구에 이용하기 전 광학현미경을 통하여 재검토하였다.

2. 방 법(PCNA의 면역조직화학적 염색)

항 PCNA 단클론 항체(DAKO, Copenhagen,

Denmark)를 면역염색용 1차 항체로 사용하였으며, microprobe detection system을 이용하여 염색하였다.

1) 각각의 파라핀 포매 조직에서 4 um 두께의 조직 박편을 만들었다.

2) Xylene과 알콜을 거쳐 증류수로 합수시킨 후 automation buffer로 세척하였다.

3) 1:50으로 희석한 1차 항체를 도포하고 37°C oven에서 60분 동안 부치시킨 후 automation buffer로 세척하고 조직 주위의 과다 buffer는 닦아내었다.

4) 2차 항체를 30분간 부치시킨 후 buffer로 세척하고 avidinperoxidase를 도포하여 37°C oven에서 30분간 부치시켰다.

5) Buffer로 세척한 후 aminoethyl carbazole (AEC)로 발색시킨 후 hematoxylin으로 대조 염색하고 crystal mount로 봉입하였다.

3. 염색결과의 측정

PCNA에 대한 면역조직화학적 염색 후 광학 현미경하에서 시야를 임의로 선정하여 고배율(400배 또는 1000배)로 5~6곳을 촬영하여 한 예당 1,000개 내외의 세포를 대상으로 관찰하였다. PCNA에 대한 면역조직화학적 염색 결과, 일반적으로 핵에 양성반응을 보이는 세포와 음성반응을 보이는 세포의 구별이 용이하였다. 그러나, 몇 예에서 핵과 세포질의 염색상의 차이가 없는 세포들이 관찰되었는데 이러한 세포들은 음성 반응을 보이는 것으로 판단하였다. 세 사람이 독립적으로 양성 반응을 보인 핵을 세어 그 평균값을 이용하였으며 PCNA 표지지수는 다음의 공식에 따라 계산한 전체 상피세포 중 PCNA에 양성으로 반응한 세포를 백분율로 표시하였다.

$$\text{PCNA labeled index(\%)} = \frac{\text{No. of PCNA-positive cells}}{\text{No. of total counted cells}} \times 100$$

Table 1. Histologic diagnosis of 50 cases examined

Cases examined	Age(M ± SE)	No. of cases (M/F)
Normal thyroid	39.2 ± 3.1	9(2/7)
Adenomatous goiter	35.6 ± 6.0	9(1/8)
Follicular adenoma	39.2 ± 3.1	9(2/7)
Hurthle cell tumor	41.7 ± 1.8	4(0/4)
Papillary carcinoma	44.5 ± 3.5	12(0/12)
Follicular carcinoma	62.6 ± 3.1	4(0/4)
Anaplastic carcinoma	55.0 ± 15.1	3(0/3)

Note: M ± SE, mean ± standard error; M/F, male/female.

4. 통계학적 분석

정상 대조군 및 갑상선의 종양성 병변에서의 PCNA 표지지수는 평균±표준편차로 나타내었으며, 이들 자료는 Kruskal-Wallis 검정법을 이용하여 통계학적 분석을 하였다.

결 과

정상조직과 종양성 병변에서 PCNA에 양성인 세포들은 잘색으로 염색된 핵을 보여 대부분 쉽게 확인할 수 있었다. 그러나 종양성 병변에서 이들 PCNA 양성 세포들의 분포 양상이 병변 전체에 걸쳐 균일하지는 않았다. 각 병변에서의 성적은 Table 2와 같다.

1. 정상 갑상선

갑상선 선종 피막 주위의 정상 여포를 비롯하고 있는 상피세포에서는 PCNA 양성세포가 거의 관찰되지 않았으며, 각 예의 표지지수는 7예에서 0, 나머지 2예는 0.4 및 0.5에 달하였다.

2. 선종성 갑상선종

상피세포와 함께 주위 침윤한 염증세포에서도 양성 반응을 보이는 세포가 관찰되었는데, 각 병변의 표지지수는 0.3에서 2.2에 달하였다(Fig. 1).

3. 여포상 선종

각 병변은 1예에서 0, 나머지 8예는 0.4에서 2.3까지의 표지지수를 보였다(Fig. 2).

4. 허털세포종

허털세포종의 종양세포들은 대부분의 세포에서 세포질에도 미약하게 염색되어 다른 병변과는 약간 상이한 염색 양상을 보였으나 PCNA 양성인 핵의 염색도와는 분명한 차이가 있었다. 각 예의 표지지수는 1.2에서 3.4에 달하였다(Fig. 3).

5. 유두상 암종

연구에 이용된 유두상 암종은 모두 유두상 구조가 잘 유지된 고분화 암종이었으며 각 예의 표지지수는 1.2에서 6.3에 달하였다(Fig. 4).

6. 여포상 암종

종양세포가 피막과 혈관을 침윤하고 비정형 상피세포에 의해 잘 덮여진 여포로 구성된 4예 모두 분화

Table 2. The labeling index PCNA-positive nuclei

Diagnosis	n	ratio(M ± SD)
Normal thyroid	9	0.1 ± 0.2
Adenomatous goiter	9	1.1 ± 0.7
Follicular adenoma	9	1.5 ± 0.8
Hurthle cell tumor	4	2.4 ± 1.0
Papillary carcinoma	12	3.5 ± 1.6
Follicular carcinoma	4	3.3 ± 2.5
Anaplastic carcinoma	3	14.1 ± 7.0

M ± SD: mean ± standard deviation.

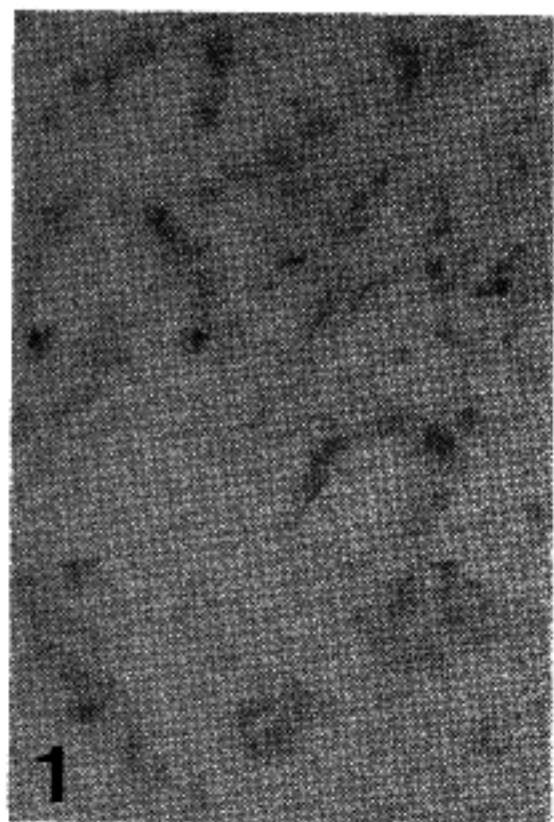


Fig. 1. Adenomatous goiter. A positive epithelial cell is recognized in the thyroid follicle (PCNA)

Fig. 2. Follicular adenoma. A few positive follicular epithelial cells are recognized (PCNA)

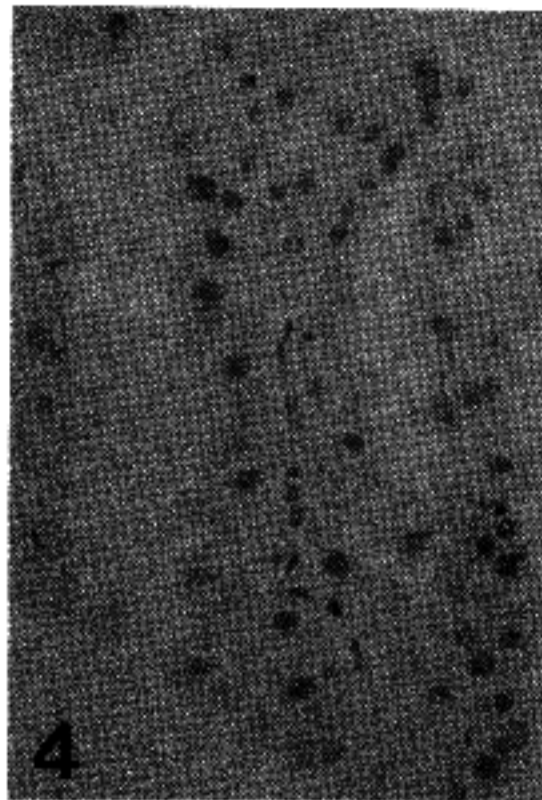
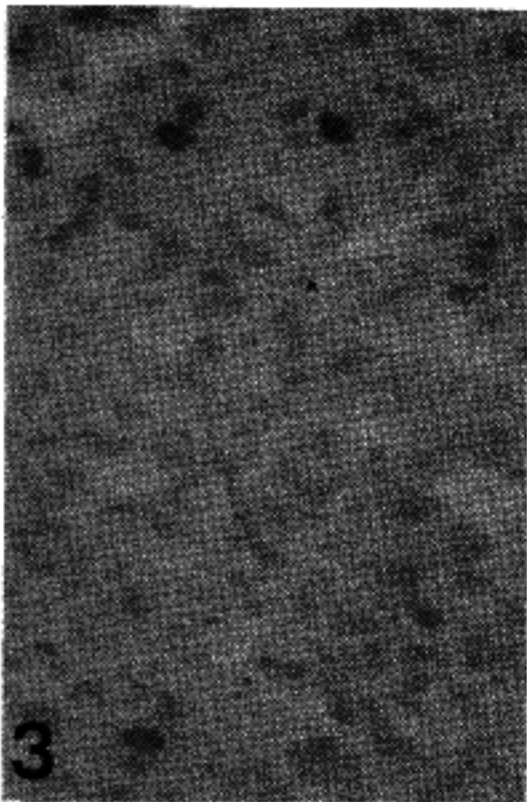


Fig. 3. Hurthle cell adenoma. Several positive follicular epithelial cells are scattered. (PCNA)

Fig. 4. Papillary carcinoma. Several positive epithelial cells are recognized in the papillary structure. (PCNA)

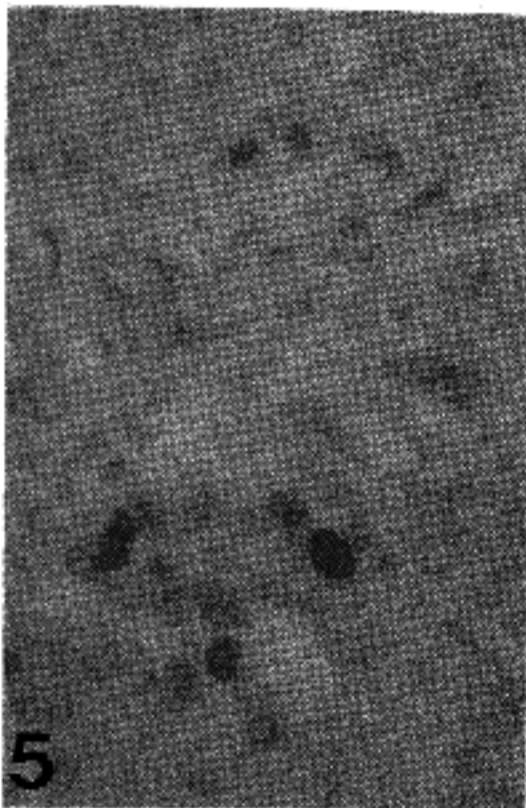


Fig. 5. Follicular carcinoma. Several light brown PCNA-positive epithelial cells are recognized. (PCNA)

Fig. 6. Anaplastic carcinoma. A giant cell and two epithelioid cells exhibit PCNA-positive reaction in the nucleus and the nucleoli, respectively. (PCNA)

가 좋은 암종이었는데 각 병변의 표지지수는 2.2에서 7.4에 달하였다(Fig. 5).

성율이 높았는데 3예의 표지지수는 8.0, 12.6 및 21.6에 달하였다(Fig. 6).

7. 미분화 암종

일부 PCNA 양성 종양세포에서는 핵소체가 핵의 다른 부위에 비하여 농밀되는 소견을 보였으며 또 어떤 세포에서는 핵소체만 염색되는 소견이 관찰되어 다른 병변과 다르게 염색되는 양상이었다. 이러한 염색상은 방추형 세포보다는 상피양 세포에서 자주 관찰되었다. 미분화 암종은 다른 병변에 비하여 PCNA 양

8. 통계학적 분석

Kruskal-Wallis 일원분산 결과 각예의 평균지수는 통계학적으로 유의하였다($p < 0.05$). 모든 양성 및 악성 종양성 병변은 정상 조직에 비하여 유의성 있게 증가하였으나($p < 0.01$), 선종성 갑상선종, 여포상 선종 및 허펠세포종 사이에서 그리고 허펠세포종, 유두상 암종 및 여포상 암종 사이에서는 유의한 차이를 인정

할 수 없었다. 또 유두상 암종과 여포상 암종은 선종성 갑상선종과 여포상 선종에 비하여 그리고 미분화 암종은 양성 종양 및 다른 악성 종양에 비하여 PCNA 표지 지수가 유의성 있게 높았다($p < 0.01$).

고 찰

갑상선 암종의 예후에 영향을 미치는 인자로서는 치료 당시 환자의 나이, 성별, 조직학적 형태, 임상 병기, 갑상선이나 림프절에 대한 수술 범위, 수술 후 방사성 요오드나 갑상선 호르몬 치료 등이 일컬어지고 있다. 그러나 다른 장기의 종양에서처럼 종양세포의 증식능이 악성도와 관계있고 또한 예후에 영향을 미치는 중요한 인자로서 작용한다는 것은 널리 알려진 사실이다. 이러한 세포역동의 정보는 방사선 요법이나 화학 요법에 대한 반응을 평가하는 척도로서 이용되기도 한다.

그래서 세포의 증식능을 측정하기 위하여 여러가지 방법이 연구되고 사용되어 왔다. 근래에는 ³H-thymidine을 이용한 자동 방사선 사진술, BrdU의 흡수 정도의 측정 및 유세포분석기를 이용한 DNA 양의 측정법 등이 시행되고 있다.

그러나 이상의 방법들은 다음과 같은 단점들을 가지고 있는데⁷⁾ 자동 방사선 사진술은 신선하고 살아있는 조직을 필요로 하고, 비경제적이며 방사성 물질의 취급에 따른 위험성과 세포 배양시 세포역동이 변화할 가능성이 있는 단점이 있다. BrdU와 항 BrdU 항체를 이용한 방법은 위와 같은 단점의 일부는 개선되었지만 여전히 배양시에 신선하고 살아있는 조직을 사용해야 한다는 단점을 안고 있다. 또 유세포분석기는 신선한 조직뿐 아니라 파라핀 포매조직을 이용할 수 있다는 장점은 있으나, 조직을 잘게 갈아 써야 하기 때문에 이용된 조직에 대한 동시적인 형태학적 검색이 이루어질 수 없고 종양세포외에도 주위 결합조직 구성 세포와 염증세포들이 포함된다는 단점을 가지고 있다.

또한 증식하는 세포를 선택적으로 확인할 수 있는 Ki-67⁸⁾, antiPAA⁹⁾, anti-ribonucleotide reductase¹⁰⁾, anti-DNA polymerase alpha¹¹⁾ 및 anti-M phase-specific monoclonal antibody인 C5F10¹²⁾과 같은 여러가지 단클론 항체들이 만들어졌다. 그러나 Ki-67과 같은 항체들은 신선한 동결절편만을 사용하여야 하고, PAA나 ribonucleotide reductase에 대한 항체들은 해당 항원이 세포주기 전체에 걸쳐 분포하고 다른 조직에서 이들의 존재여부가 아직 밝혀지지 않았기 때문에 유용한 도구로써 사용되지는 못하는 실정이다.

Bravo와 Celis¹³⁾는 증식하는 세포와 정지세포의 이차원적 겔 전기영동을 통해서, Miyachi등¹⁴⁾은 SLE 환자에서 자가항체를 이용하여 36KD의 핵 단백질인 PCNA를 각각 독립적으로 기술하였다. PCNA의 발

현은 세포주기의 S기와 상관관계가 있으며⁵⁾, 최근에는 PCNA가 DNA polymerase delta의 보조단백이고²⁾, 증식세포에 출현하는 단백질인 cyclin과 동일한 물질임이 밝혀졌으며 세포증식의 시작에 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다¹⁴⁾. PCNA는 세포 주기중 G1 후기부터 S기 전반에 걸쳐 합성되므로 세포 증식능의 표지자로 이용될 수 있다고 하였다^{15,16)}. PCNA를 이용한 면역조직화학적 염색은 잘 보존되는 PCNA의 항원성 때문에 파라핀 포매조직을 이용할 수 있으며 동시에 형태학적 관찰이 용이하다는 장점이 있다. PCNA 항체는 19A2, 19F4, TOB7 및 PC10 등 4가지 형태가 존재하는데 이들은 세 그룹의 연구자들에 의하여 만들어졌다^{4,15,17)}.

이들 PCNA 항체를 이용한 세포 증식도는 악성 림프종¹⁸⁾, 백혈병¹⁹⁾, 신경교종²⁰⁾ 및 다른 종양들^{6,21)}에서 많은 연구가 이루어진 바, 악성 세포에서의 PCNA 양성율이 정상 세포에 비하여 유의성 있게 증가하였다는 보고를 접할 수 있다.

본 연구에서는 정상 갑상선 및 갑상선의 종양성 병변에 대하여 PCNA에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하였는데 그 결과 선종성 갑상선종, 여포상 선종 및 허탈세포종의 PCNA 표지 지수는 정상 조직에 비하여, 미분화 암종은 모든 양성 종양성 병변에 비하여, 그리고 유두상 및 여포상 암종은 허탈세포종을 제외한 양성 종양성 병변에 비하여 유의성 있게 높았다. 이러한 결과는 ³H-thymidine을 이용한 자동 방사선 사진술로 갑상선 종양의 증식능을 분석한 연구²²⁾ 및 DNA 함량의 측정²³⁾에 의한 결과와 대체적으로 일치하는 소견이다.

정상 갑상선에서는 PCNA 표지 지수가 평균 0.1로서 PCNA에 양성인 세포가 매우 드물었다. 그러나 양성 종양성 병변인 선종성 갑상선종과 여포상 선종에서는 표지 지수가 1.1 및 1.5로서 정상 대조군에 비해 유의한 증가를 보였으나 이러한 소견은 Shimizu 등²⁴⁾이 시행한 연구결과인 1.9 및 2.0에 비하여 다소 낮은 양성율이었다. 또 다른 양성 종양성 병변인 허탈세포종은 2.4에 달하는 표지 지수를 보였는데 이는 본 저자 및 Shimizu 등²⁴⁾의 연구에서 나타난 여포상 선종보다 높은 PCNA 표지 지수를 보여 여포상 선종에 비하여 세포 증식이 활발함을 알 수 있다.

갑상선의 흔한 악성 종양인 유두상 암종과 여포상 암종의 표지 지수는 각각 3.5와 4.4에 달하였으며 이들 두 종양사이에서 유의한 증식능의 차이는 인정할 수 없었다. 본 연구에서는 두 암종 모두 분화도가 좋은 검체가 이용되었기 때문에 분화도가 낮은 종양의 세포 증식도는 측정할 수 없었는데 Sakamoto 등²⁵⁾은 갑상선의 유두상 암종을 고분화형과 저분화형으로 분류하여 이들 사이에 예후의 차이가 있다고 보고한 바 있으나 어떤 종양학자들^{26,27)}은 이들 사이에 임상 경과의 차이가 없다고 보고하였다. Shimizu 등²⁴⁾은 유두상 암

종에 대한 PCNA의 면역조직화학적 염색 결과 PCNA 표지 지수가 고분화형에서는 4.9에, 그리고 저분화형에서는 4.6에 달한다고 하였다. 또 이들은 연구 결과 여포상 암종의 표지 지수는 3.6으로서 갑상선의 양성 질환보다는 훨씬 높으나 유두상 종양과는 유의한 차이가 없다고 보고하여 여포상 암종과 유두상 암종이 유사한 임상경과를 취한다는 다른 학자들²⁸⁾의 보고와 일치하는 소견을 보였다.

갑상선 미분화 암종의 PCNA 표지 지수는 평균 14.1로 아주 높았는데 이는 Aldinger 등²⁹⁾이 84예의 미분화 암종에 대한 검토 결과 적절한 치료 후에도 5년 생존율이 7.1%, 조직학적 진단 후 평균 생존기간이 6.2개월로써 급격한 임상 경과를 취하는 것과 일치하는 소견으로 사료된다.

Shimizu 등²⁴⁾은 2예의 갑상선 미분화 암종의 PCNA 표지 지수가 50에 달해 본 연구의 결과와 현저한 차이가 있음을 알 수 있다. 두 연구 결과에서 이와 같이 현격한 차이를 보이는 것은 Shimizu 등²⁴⁾은 2예, 본 연구는 3예의 미분화 암종을 연구 대상으로 하였기 때문에 표본수가 적은 것이 가장 큰 원인일 것으로 생각된다.

이밖에도 PCNA에 대한 면역조직화학적 염색과정에서의 문제점을 생각해볼 수 있는데, 일반적으로 파라핀 포매조직으로 면역조직화학적 염색을 시행할 때 좋은 염색상을 얻기 위한 가장 중요한 요소는 고정이다²⁴⁾. 유기용제를 사용하여 고정시킬 경우 PCNA 염색은 핵내에서 DNA 합성이 진행중인 부위에 국한된다³⁰⁾. PCNA는 세포주기에 따라 그 분포도가 달라지는데 S기 초기에는 과립상 분포를 보이며 핵소체에는 존재하지 않고, S기 말기에는 핵소체의 저명한 염색상이 관찰된다. 그러나, 알데히드를 이용하여 고정한 조직에서는 PCNA의 분포가 다르고 세포의 전 주기를 통하여 핵에 미만성으로 강한 염색반응을 보이는 경향이 있다고 하였다³⁰⁾. 이러한 차이는 두 가지 형태의 PCNA가 존재한다는 가설에 의해 설명될 수 있다. 즉, 유기용제 고정에 의하여 소실되고 복제에는 관여하지 않는 용해형과 DNA 합성이 진행되는 부위와 관계있는 불용해형이 그것이다³⁰⁾. 세포주기 동안 PCNA 전체 농도는 많아야 2~3배 정도 변하지만 세포주기 중에서 S기에는 염색질과 관련되기 때문에 나머지 다른 기에 비하여 비용해성 PCNA 분획이 훨씬 많다는 사실은 위의 가설에 적합한 소견이며, 세포의 핵에 존재하는 PCNA의 농도는 복제기능에 필요한 양보다 많은 것으로 보고된 바 있다³¹⁾.

한편 Shimizu 등²⁴⁾은 methacarn 고정액(methanol-chloroform-acetic acid=6:3:1)이 메탄올과 포르말데히드 용액보다 우수하다는 결론을 얻었으며^{32,33)} Garcia 등⁷⁾도 methacarn을 고정액으로 이용함으로써 만족스러운 결과를 얻었다고 하였다. 그래서 유기용제로 만들어진 고정액에 고정된 조직내에서 S

기의 PCNA가 장시간 잘 보존되는 것으로 생각된다. 그러나 PCNA 염색에 중요한 다른 요소로서 온도, 고정시간 및 조직의 크기등이 있는데 이러한 변수들이 동일한 상태에서 고정하는 것이 PCNA 염색에 중요하다.

본 연구에서는 포르말린으로 고정된 조직을 사용하였기 때문에 세포핵에 존재하는 PCNA의 보존이 적절하지 못하여 특히 미분화 암종에서 다른 연구자들의 결과에 비하여 낮은 PCNA 표지 지수를 보였을 가능성도 배제할 수 없을 것으로 사료된다.

본 연구 결과 PCNA에 의한 면역조직화학적 염색은 세포 증식도 측정에 지금까지 소개되었던 다른 방법들 보다 훨씬 용이하게 이용될 수 있으며, 또 이들 갑상선의 종양성 병변에 적용시킨 결과 양성 종양성 병변과 악성 종양에서의 PCNA 표지 지수는 이들의 악성도 및 예후와 상관관계가 있는 것으로 사료된다.

결 론

종양의 생물학적 활성, 악성도 및 예후와 관계되는 세포 증식도를 측정하기 위하여 갑상선의 병변을 대상으로 PCNA에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 정상 갑상선 9예, 선종성 갑상선종 9예, 여포상 선종 9예, 허탈세포종 4예, 유두상 암종 12예, 여포상 암종 4예 및 미분화 암종 3예에 대한 연구에 의하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) 선종성 갑상선종, 여포상 선종, 허탈세포종의 PCNA 표지 지수는 각각 1.1, 1.5 및 2.4로 정상 갑상선의 0.1에 비하여 유의성 있게 높았다.
- 2) 유두상 암종과 여포상 암종의 PCNA 표지 지수는 각각 3.5와 4.4로 허탈세포종을 제외한 양성 병변에 비하여 유의성 있게 높았으나, 이들 두 종양 사이에서는 유의한 차이가 관찰되지 않았다.
- 3) 미분화 암종의 PCNA 표지 지수는 14.1로 양성 종양 및 다른 악성 종양에 비하여 유의성 있게 높았다.

이상의 결과에 의하여 PCNA 발현도는 종양의 악성도와 상관관계가 있으며, PCNA에 대한 면역조직화학적 염색이 종양의 악성도와 예후판정에 도움을 줄 수 있는 유용한 방법이라 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Miyachi K, Fritzler MJ, Tan EM. *Autobody to a nuclear antigen in proliferating cells. J Immunol* 1978; 121: 2228-34.
- 2) Bravo R, Frank R, Blundell PA, Macdonald-Bravo H. *Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase-delta. Nature* 1987; 326: 515-7.
- 3) Prelich G, Tan C-K, Kostura M, Mathewa NB, So

- AG, Downey KM, et al. *Functional identity of proliferating cell nuclear antigen and a DNA polymerase-delta auxiliary protein*. *Nature* 1987; 326: 517-20.
- 4) Takasaki Y, Deng JS, Tan EM. *A nuclear antigen associated with cell proliferation and blast transformation: Its distribution in synchronized cells*. *J Exp Med* 1981; 154: 1899-909.
- 5) Celis JE, Celis A. *Cell cycle dependent variations in the distribution of the nuclear protein cyclin proliferating cell nuclear antigen in cultured cells: Subdivision of S phase*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 3262-6.
- 6) Robbins BA, Vaga D, Ogata K, Tan EM, Nakamura RM. *Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen in solid human malignancies*. *Arch Pathol Lab Med* 1987; 111: 841-5.
- 7) Garcia RL, Coltrera MD, Gown AM. *Analysis of proliferative grade using anti-PCNA/cyclin monoclonal antibodies in fixed, embedded tissues*. *Am J Pathol* 1989; 134: 733-9.
- 8) Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker H, Schwab U, Stein H. *Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67*. *J Immunol* 1983; 133: 1710-5.
- 9) Dubey DB, Staunton DE, Parekh AC, Schwarting GA, Antoniou D, Lazarus H, Yunis EJ. *Unique proliferation-associated marker expressed on activated and transformed human cells defined by monoclonal antibody*. *JNCI* 1987; 78: 203-12.
- 10) Enstrom Y. *Monoclonal antibodies against mammalian ribonucleotide reductase*. *Acta Chem Scand Ser B Org Chem Biochem* 1982; 36: 343-4.
- 11) Tanaka S, Hu S, Wong TS, Korn D. *Preparation and preliminary characterization of monoclonal antibodies against human DNA polymerase-alpha*. *J Biol Chem* 1982; 257: 8386-90.
- 12) Lloyd RV, Wilson BS, Varani J, Gaur PK, Moline S, Makari JG. *Immunocytochemical characterization of a monoclonal antibody that recognizes mitosing cells*. *Am J Pathol* 1985; 121: 275-83.
- 13) Bravo R, Celis JE. *A search for differential polypeptide synthesis throughout the cell cycle of HeLa cells*. *J Cell Biol* 1980; 84: 795-802.
- 14) Jaskulski D, DeRiel JK, Mercer WE, Calabretta B, Baserga R. *Inhibition of cellular proliferation by antisense oligodeoxynucleotides to PCNA/cyclin*. *Science* 1988; 240: 1544-6.
- 15) Waseem NH, Lane DP. *Monoclonal antibody analysis of the proliferating cell nuclear antigen(PCNA): Structural conservation and the detection of a nucleolar form*. *J Cell Sci* 1990; 96: 121-9.
- 16) Bravo R, Macdonald-Bravo H. *Changes in the nuclear distribution of cyclin(PCNA) but not its synthesis depend on DNA replication*. *EMBO J* 1985; 4: 655-61.
- 17) Ogata K, Kurki P, Celis JE. *Monoclonal antibodies to a nuclear protein(PCNA/cyclin) associated DNA replication*. *Exp Cell Res* 1987; 168: 475-86.
- 18) Smetana K, Gyorkey F, Chan PK, Tan EM, Busch H. *Proliferating cell nuclear antigen(PCNA) and human tumor nucleolar antigens(HMTNA) in nucleoli human hematological malignancies*. *Blut* 1983; 46: 133-41.
- 19) Keim D, Hailat N, Hodge D, Hanash SM. *Proliferating cell nuclear antigen expression in childhood acute leukemia*. *Blood* 1990; 76: 985-90.
- 20) Tabuchi K, Honda C, Nakane PK. *Demonstration of proliferating cell nuclear antigen(PCNA/cyclin) in glioma cells*. *Neurol Med Chir(Tokyo)* 1987; 27: 1-5.
- 21) Coltrera MD, Gown AM. *PCNA/cyclin expression and BrdU uptake define different subpopulations in different cell lines*. *J Histochem Cytochem* 1991; 39: 23-30.
- 22) Miyakawa M. *Studies on proliferation and function of follicular epithelium in thyroid disease using 3H-thymidine autoradiography*. *Shinshu Med J* 1969; 18: 308-17.
- 23) Yoshida A. *Nuclear DNA content of thyroid adenocarcinoma*. *Nippon Geka Gakkai Zasshi* 1984; 85: 1261-73.
- 24) Shimizu T, Usuda N, Yamanda T, Sugeno A, Iida F. *Proliferative activity of human thyroid tumors evaluated by proliferating cell nuclear antigen/cyclin immunohistochemical studies*. *Cancer* 1993; 71: 2807-12.
- 25) Sakamoto A, Kasai N, Sugano H. *Poorly differentiated carcinoma of the thyroid: a clinicopathological entity for a high risk group of papillary and follicular carcinomas*. *Cancer* 1983; 52: 1849-55.
- 26) Carcangiu ML, Zampi G, Pupi A, Castagnoli A, Rosai J. *Papillary carcinoma of the thyroid: a clinicopathologic study of 241 cases treated at the university of Florence, Italy*. *Cancer* 1985; 55: 805-28.
- 27) Vickery AL Jr., Carcaci ML, Johannessen JV. *Papillary carcinoma*. *Semin Diagn Pathol* 1985; 2: 90-100.
- 28) Donohue JH, Goldfien SD, Miller TR. *Do the prognoses of the papillary and follicular carcinoma differ?* *Am J Surg* 1984; 148: 168-70.
- 29) Aldinger KA, Samaan NA, Ibanez M, Hill CS Jr.

- Anaplastic carcinoma of the thyroid: a review of 84 cases of spindle and giant cell carcinoma of the thyroid. Cancer 1978; 41: 2267-75.*
- 30) Bravo R, Macdonald-Bravo H. *Existence of two populations of cyclin/proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle: association with DNA replication sites. J Cell Bio. 1987; 105: 1549-54.*
- 31) Morris GF, Mathews MB. *Regulation of proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle. J Biol Chem 1989; 264: 13856-64.*
- 32) Puchtler H, Waldrop FS, Meloan SN, Terry MS, Conner HM. *Methacarn(methanol-Carnoy) fixation. Histochemie 1970; 21: 97-116.*
- 33) Shimizu T, Usuda N, Yamanda T, Sugeno A, Nagata T, Iida F. *Immunohistochemical staining for PCNA/cyclin assessment of fixative procedure and its application to the thyroid tissues. Acta Histochem Cytochem 1991; 24: 533-3.*
-