

멜라닌 세포성 종양에서 HMB-45와 S-100 단백질에 대한 면역 조직화학적 연구

전남대학교 의과대학 병리학교실

박창수 · 김환익 · 고향미 · 김경수 · 이지신

Immunohistochemical Evaluation of HMB-45 and S-100 Protein in Melanocytic Tumors

Chang Soo Park, M.D., Hwan Ig Kim, M.D., Hyang Mi Ko, M.D.
Kyung Soo Kim, M.D. and Ji Shin Lee, M.D.

Department of Pathology, Chonnam University College of Medicine

Immunohistochemical staining on paraffin sections for S-100 protein improved diagnostic accuracy for melanocytic tumor. But specificity of S-100 protein in the diagnosis of melanocytic tumor is very low, because S-100 protein was also expressed in neurogenic tumor and salivary gland tumor. To investigate a specific tumor marker for the malignant melanoma, immunohistochemical staining for HMB-45 and S-100 protein was performed on the paraffin sections of 25 cases of malignant melanoma and 46 cases of nevi. Positive reaction for HMB-45 and S-100 protein was diffusely identified in the cytoplasm of tumor cells. Positive ratio for HMB-45 was 100% in malignant melanoma, 92% in junctional component of compound nevus and 0% in intradermal nevus. Positive ratio for S-100 protein was 92% in malignant melanoma, 100% in compound nevus and 100% in intradermal nevus. The sensitivity and specificity for HMB-45 in malignant melanoma were 100%, but those for S-100 protein were 92% in sensitivity and 86.7% in specificity.

These results indicate that HMB-45 has a high sensitivity and specificity for malignant melanoma cells and it can be quite useful for the histopathological diagnosis of malignant melanoma. (Korean J Pathol 1995; 29: 189~196)

Key Words: HMB-45, S-100 protein, Malignant melanoma

서 론

악성 흑색종은 멜라닌세포에서 유래된 종양으로 국내 발병율은 0.5%에 불과하지만¹⁾ 비교적 불량한 예후를 가지며 적절한 치료를 위하여 정확한 진단이 요구되고 있다.

악성 흑색종은 주로 상피양세포로 구성되어있으나

구성세포가 주로 방추형세포인 경우 방추형세포성 암종이나 간엽성 종양과 조직학적 소견이 유사하고 특히 멜라닌 색소가 없는 멜라닌 색소결핍 흑색종은 미분화 암종이나 육종 및 림프종과 감별이 힘들어 감별진단을 위한 여러가지 방법들이 제시되고 있다^{2,3)}.

악성 흑색종을 다른 종양과 구별할 수 있는 방법들은 DOPA(dihydroxyphenylalanine) 산화효소를 조직 화학적으로 증명하는 DOPA법과 Masson-Fontana silver법 등이 있으나 DOPA법은 동결절편을 사용해야 하고 Masson-Fontana silver법은 멜라닌이나 지방갈색소(lipofuscin) 및 기은성과립(argentaaffin granules)과도 반응하여 특이성이 결여되

접 수: 1994년 5월 31일, 게재승인: 1994년 8월 24일
주 소: 광주시 동구 학동 1구 8, 우편번호 501-190
전남대학교 의과대학 병리학교실, 박창수

기 때문에^{4,5)} 전자 현미경적 검색 및 면역 조직화학적 염색법이 이용되기 시작하였다^{6,7)}.

S-100 단백질은 신경세포에서 처음으로 검출되었는데⁸⁾ 멜라닌 세포에서도 발현됨으로서 멜라닌세포성 종양의 진단에 이용되고 있다⁹⁻¹¹⁾. 그러나 S-100 단백질은 신경 세포 종양이나 타액선 종양 등 다른 종양에서도 검출되어¹²⁻¹⁶⁾ 멜라닌세포성 종양의 진단에 특이성이 낮은 것으로 알려졌다. S-100 단백질 이외에 멜라닌세포에 반응하는 여러가지 종류의 단클론성 및 다클론성 항체가 추출되었지만¹⁷⁻²⁶⁾ 대부분의 항체들은 세포막 항원과 반응하며, 포르말린 고정과 파라핀 절편의 제작과정에서 항원이 소실될 수 있으므로 동결절편이 요구되고, 또한 일부 항체는 비멜라닌 세포성 종양과도 반응하므로 면역 조직화학적 검색도 어려운점이 많다.

따라서 멜라닌세포성 종양의 진단에 유용한 새로운 검사방법이 요구되고 있으며 특히 악성 흑색종의 진단에 특이적인 표지자가 절실히 요구되고 있다.

이에 저자는 악성 흑색종의 진단에 특이적인 표지자를 알아보기 위하여 악성 흑색종 세포에 대한 단클론성 항체인 HMB-45와 산성 단백질인 S-100 단백을 사용하여 멜라닌 세포성 종양에 대한 면역 조직화학적 검색을 시행하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

멜라닌세포성 종양으로 진단된 71예와 비멜라닌세포성 종양 60예를 대상으로 하였다. 멜라닌세포성 종양은 악성 흑색종 25예와 모반 46예였는데 악성 흑색종은 23예가 원발성이었고 2예가 전이성였으며 모반은 복합모반이 13예, 진피내모반이 33예였다. 비멜라닌세포성 종양은 암종, 육종, 비 Hodgkin 림프종이 각각 20예씩이었는데 암종은 선암종과 편평상피암종이 10예였고 육종은 신경교육종 2예, 평활근육종 2예, 지방육종 1예, 악성 섬유성 조직구종 6예, 악성 신경초종 4예, 골육종 2예, 횡문근육종 3예 였다.

2. 면역 조직화학적 염색

10% 중성 완충 포르말린에 고정한 후 제작한 파라핀 포매체를 3 μ m 두께로 박절하여 Probe-On Plus Slide(Fisher Scientific Co)에 부착시켜 충분히 건조한 후 실험에 이용하였다. 파라핀 절편은 탈파라핀과 함수과정을 거친후 내재성 alkaline phosphatase를 억제할 목적으로 Redusol[®](Biomed)에 3분간 반응시키고 1X automation buffer(Biomed)에 4분간 부치시킨 다음 일차항체인 HMB-45(Biomed)와 S-100 단백질(Biomed)을 각각 30분 동안 부치시켰다. 일차항체의 부치가 끝난 후 1X automation buffer로 수세한 다음 biotin이 부착된 이차항체

(universal secondary antibody, Biomed)에 10분간 부치시키고, 다시 1X automation buffer로 수세한 후 Streptavidin-alkaline phosphatase(Biomed)로 10분간 부치시켰다. Biotin이 부착된 이차항체와 결합한 streptavidin-alkaline phosphatase의 활성을 증진 시키기 위해 phosphatase enhancer(Biomed)를 반응시킨 후 멜라닌 색소와 구별이 가능하도록 적색 발색제인 fast red TR salt(Biomed)로 발색 시켰고 헤마톡실린으로 대조 염색을 시행한 후 수성 봉입제인 crystal mount(Biomed)로 봉입하여 양성 반응을 관찰하였다.

염색의 전과정은 capillary gap action의 원리를 이용한 MicroProbe Immuno/DNA Stainer(Fisher Scientific Co.)를 이용하였고 전 과정의 부치 온도는 45 $^{\circ}$ C로 하였으며 면역 조직화학적염색을 시행할 때마다 slide holder에 양성 대조군 및 음성 대조군을 포함한 조직절편이 부착된 20장의 슬라이드를 끼워서 동시에 시행하였으며, 음성 대조군은 일차 항체 희석액을 이용하여 관찰하였다.

3. 통계학적 분석

HMB-45와 S-100 단백질의 악성 흑색종 진단에 대한 특이성, 민감성 그리고 양성 및 음성 예견율을 확인하였다.

성 적

1. 조직학적 검색

23예의 원발성 악성 흑색종은 진피내로 침윤을 보이는 침습성(invasive) 종양이었고, 2예의 전이성 악성흑색종은 폐와 뇌에 전이한 경우이었다. 뚜렷한 핵소체와 풍부한 과립상의 세포질이 관찰되는 상피양 흑색종 세포들로 구성된 경우가 23예, 방추형의 종양세포들로 구성된 경우가 2예였다. 표피와 진피에 모반세포가 함께 존재한 경우는 복합모반으로 진피내에만 모반세포가 존재한 경우는 진피내 모반으로 분류하였다.

비멜라닌세포성 종양은 멜라닌 색소가 출현하지 않았으며 암종은 암소와 간질이 잘 구분되었고 육종과 림프종은 각각 방추형과 원형의 종양세포로 구성되어 있었다.

2. 면역 조직화학적 검색

멜라닌세포성 종양 및 비멜라닌세포성 종양에 있어서 HMB-45와 S-100 단백질에 대한 면역 조직화학적 검색 성적은 Table 1에서와 같다. 면역 조직화학적 염색상 양성 반응에 대한 발색은 적색으로 관찰되어 갈색의 멜라닌 색소와 감별이 용이하였으며, HMB-45와 S-100 단백질에 대한 면역 조직화학적 염색 소견은 종양세포의 세포질에서만 미만으로 관찰되었다

Table 1. Results of immunohistochemical reaction for HMB-45, S-100 protein in melanocytic and nonmelanocytic tumors

Tumor type	No. of cases	HMB-45		S-100	
		+	-	+	-
Melanomas	25				
Primary	23	23	0	22	1
Metastatic	2	2	0	1	1
Nevi	46				
Intradermal	33	0	33	33	0
Compound	13	12	1	13	0
Carcinomas	20				
Adenocarcinoma	10	0	10	0	10
Squamous cell carcinoma	10	0	10	1	9
Sarcomas	20				
Gliosarcoma	2	0	2	2	0
Leiomyosarcoma	2	0	2	0	2
Liposarcoma	1	0	1	1	0
MFH	6	0	6	0	6
Malignant schwannoma	4	0	4	4	0
Osteosarcoma	2	0	2	0	2
Rhabdomyosarcoma	3	0	3	0	3
Non-Hodgkin's lymphoma	20	0	20	0	20

+: positive reaction
-: negative reaction

(Fig. 1, 2). 악성 흑색종의 상피양 종양세포들은 HMB-45와 S-100 단백질에 대하여 강한 양성 반응을 보였는데, HMB-45는 모든 예의 악성 흑색종에서 양성 반응을 보였지만(Fig. 3) S-100 단백질에서는 1예의 원발성과 1예의 전이성 악성 흑색종이 음성 반응을 나타냈다(Fig. 4). 복합모반은 HMB-45의 경우 표피 하부에 존재하는 모반세포만 양성 반응을 나타냈고 진피 내에 침윤된 모반세포는 음성 반응을 보였으며(Fig. 5), S-100 단백질은 표피 및 진피내의 모든 모반세포에서 양성 반응을 보였다(Fig. 6). 진피내 모반은 HMB-45의 경우 모든 예의 모반세포가 음성 반응을 보였으나(Fig. 7) S-100 단백질은 모든 예의 모반세포가 양성으로 관찰되어 악성 흑색종과 진피내 모반 간에 뚜렷한 차이를 보였다(Fig. 8). 종양소 주변부에서 관찰되는 정상 멜라닌세포는 S-100 단백질에는 양성 반응을 보였지만 HMB-45는 모두 음성 반응을 나타냈다.

암종과 육종 그리고 림프종 전예에서 HMB-45는 음성으로 관찰된 반면 S-100 단백질은 암종 1예(5.0%), 육종 7예(35.0%)에서 양성으로 관찰되었는데 암종 1예는 편평상피암종이었으며, 육종 7예는 지방육종이 1예, 신경교육종이 2예 그리고 악성 신경초종이 4예였

다. 악성 신경초종은 HMB-45에는 모두 음성 반응을 보였고, S-100 단백질에는 4예 모두 양성 반응을 나타냈다.

HMB-45와 S-100 단백질에 대한 양성율은 악성 흑색종의 경우 HMB-45는 100%(25/25)로 S-100 단백질의 92%에 비해 높았으며, 복합모반은 HMB-45에 대해 12예(92.0%)에서 양성으로 관찰되었고 S-100 단백질에 13예 모두 양성으로 관찰되었다. 진피내 모반에서 HMB-45는 모든 예가 음성으로 관찰되었으나 S-100 단백질은 모든 예가 양성으로 관찰되어 양자간에 뚜렷한 차이를 보였다.

3. 통계학적 분석

1) HMB-45: 악성 흑색종에 대한 HMB-45의 민감성은 100%(25/25)였고, 특이성 또한 60예의 비멜라닌 세포성 종양 모두에서 음성으로 100%(60/60)였다.

양성 예건율은 100%(25/25)였으며 음성예건율 역시 100%(60/60)였다.

2) S-100 단백질: S-100 단백질의 악성 흑색종에 대한 민감성은 92%(23/25)였고 특이성은 86.7%(52/60)였

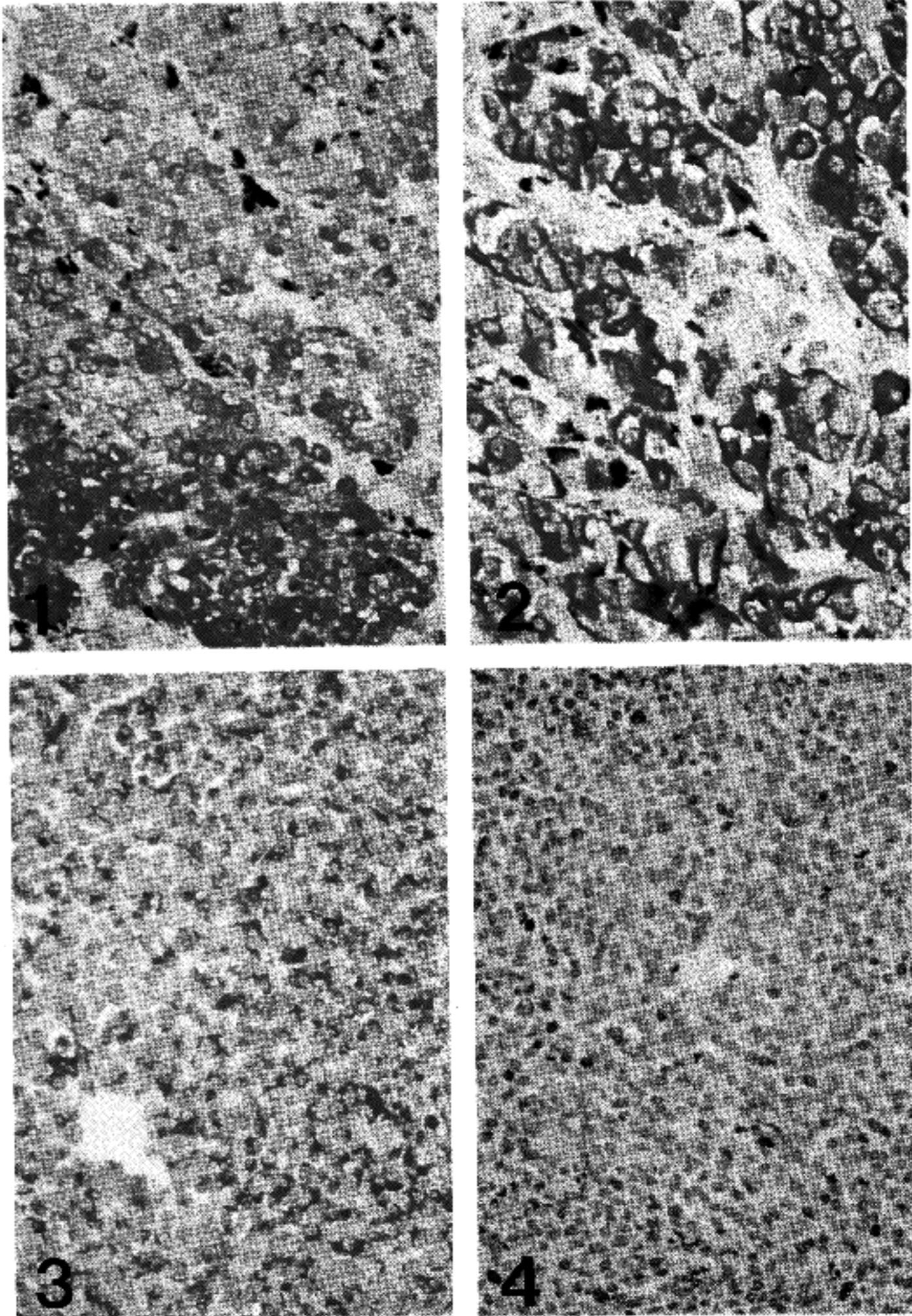


Fig. 1. Strong immunohistochemical reaction for HMB-45 is identified in the cytoplasm of tumor cells in malignant melanoma.

Fig. 2. Positive staining for S-100 protein is noted in the cytoplasm of tumor cells in malignant melanoma.

Fig. 3. Positive reaction for HMB-45 is diffusely noted in the tissue section of primary malignant melanoma.

Fig. 4. Negative reaction for S-100 is noted in the same melanoma case(Fig. 3).

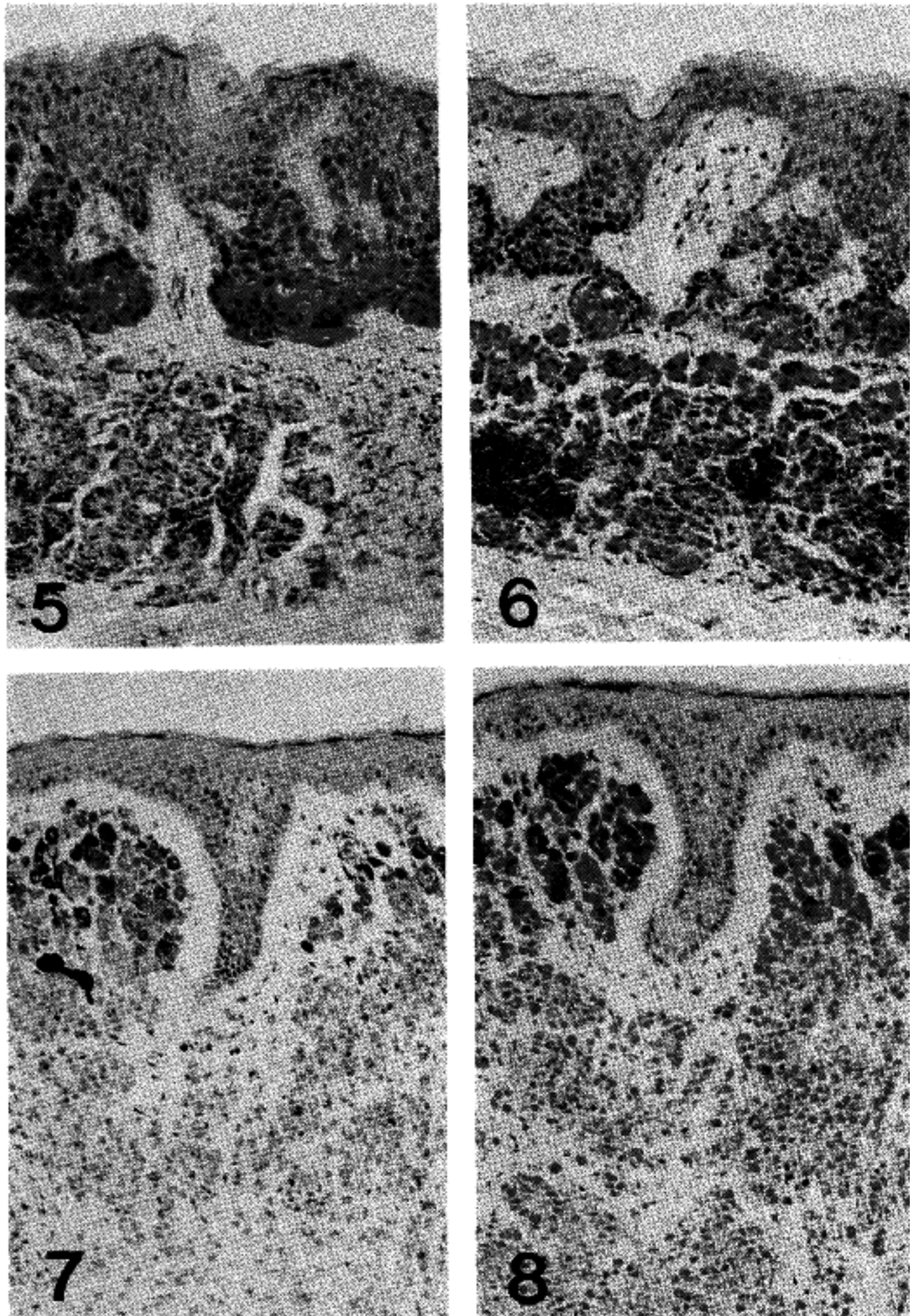


Fig. 5. Positive reaction for HMB-45 is only noted in the junctional components of compound nevus.
Fig. 6. All nevi cells in the compound nevus reveal positive reaction for S-100.
Fig. 7. The nevi cells of intradermal nevus reveal negative reaction for HMB-45.
Fig. 8. All of the nevi cells in intradermal nevus reveal positive reaction for S-100.

다. 양성 예견율은 76.7%(23/31)였고 음성예견율은 93.4%(52/54)였다.

고 찰

멜라닌세포성 종양에서 모반의 악성 변화는 매우 드문것으로 알려져 있지만 거대 선천성 모반세포성 모반이나 이형증식성 모반은 악성변화의 가능성이 있으며, 악성 흑색종 환자의 20~40%에서 모반이 동반된다는 점등은 모반으로 부터 악성 변화의 가능성을 암시해주고 있다. 따라서 악성변화의 가능성이 있는 모반이나 악성 흑색종의 정확한 병리조직학적 진단은 환자의 적절한 진료와 예후 판정을 위하여 매우 중요한 일이다.

그러나 H & E 염색소견상 악성 흑색종과 유사한 조직학적 소견을 갖는 종양과 감별이 어렵기 때문에^{2,3)} 전자현미경적 검색이 요구되고 있으나 신선한 조직의 고정이 필요하고 제한된 조직 채취를 사용하기 때문에 종양의 전체적인 관찰이 어렵다⁶⁾. 이에 비하여 세포 표지자나 종양 표지자에 대한 단클론성 혹은 다클론성 항체를 이용한 면역 조직화학적 염색법은 분화가 나쁜 종양을 객관적으로 구분할 수 있고 역행적 연구가 가능하게 되어 진단 병리분야에 커다란 진보를 가져왔다^{6,7)}.

Moore 등⁸⁾에 의하여 신경세포에서 처음으로 추출된 S-100 단백질은 두개의 subunit(α , β)로 구성된 산성 단백질로 모반과 원발성 혹은 전이성 흑색종에서 증명되어⁹⁻¹¹⁾ 멜라닌세포성 종양의 진단에 널리 사용되었다. 그러나 S-100 단백질은 멜라닌세포 뿐 아니라 신경세포 종양¹²⁾, 연골아세포종, 연골육종, 골육종¹³⁾, 악성교종¹⁴⁾, 랑게르한스 세포와 조직구종¹⁵⁾ 및 암종¹⁶⁾에서도 관찰되므로 멜라닌세포성 종양의 진단에 있어서 특이성은 낮은 것으로 알려졌다.

본 연구에서 S-100단백의 악성 흑색종에 대한 민감성은 92%로 비교적 높았으나 암종, 악성 신경초종, 신경교육종, 지방육종 등에서도 양성반응을 보여 S-100 단백질의 악성흑색종에 대한 특이성은 86.7%로 비교적 낮게 관찰되었고 이는 Wick 등²⁷⁾의 보고와 유사하였다. 따라서 악성 흑색종의 감별을 위해서는 새로운 표지자가 요구되고 있다. 이러한 종양 표지자로서는 림프종에서 증명되는 leukocyte common antigen (LCA), 상피세포 표지자인 cytokeratin, 육종에서 관찰되는 vimentin 등이 열거되고 있으나^{6,7)}, cytokeratin은 육종^{28,29)}에서, vimentin이 암종 등^{6,30)}에서도 관찰되는경우가 있어 악성 흑색종에 대한 이들의 특이성은 높지않다.

Gowe 등²¹⁾은 림프절에 전이된 악성 흑색종에서 얻은 세포주를 이용하여 HMB-45라는 단클론성 항체를 개발하였는데, 이 항체는 세포질성 단클론성 항원을 인지하며 통상의 포르말린 고정에서도 검출이 가능하다고 하였다.

본 연구에서 HMB-45의 염색상은 세포질에 국한되어 적색으로 관찰되었는데 이는 HMB-45 항체가 세포질 항원을 검출한 것으로 염색소견은 다른 학자들의 성적과 유사하였다^{2,5,7,31)}. HMB-45의 양성율은 원발성과 전이성악성 흑색종에서 모두 양성(100%)으로 관찰되어 다른 학자들이 보고한 96%^{2,31)}, 91.4%³¹⁾, 92.5%²⁷⁾에 비해 높은 성적이었다. 이와같이 높은 양성율을 보인 이유로는 일차적으로 생검조직의 적절한 고정에 유의하였고, 염색과정에 있어서 일차 항체를 도포하기 전에 조직항원이 잘 노출될 수 있도록 하였으며, 민감성이 높은 이차항체와 발색제를 사용하였고, 모든 과정의 부치 온도가 일정하게 유지되도록 한 결과로 생각된다. 진피내 모반의 경우 HMB-45에 모두 음성이었고, 복합모반의 경우 표피하부의 경계모반 세포에서만 양성으로 관찰되었는데 이는 경계모반세포와 진피내 모반세포가 형태학적³²⁾, 세포종식능³³⁾ 및 효소 활성도³⁴⁾등에서 서로 다르다는 보고에 부합되는 소견이었으며 또한 정상 멜라닌세포가 음성인 반면 모반세포와 악성흑색종에서 양성인 점은 HMB-45가 정상 멜라닌세포의 악성과 관련이 있음을 시사해주며 HMB-45가 양성모반과 Spitz모반에서 약양성인 반면 악성 흑색종에서 강양성 반응을 보여 이들 두질환의 감별에 도움을 줄 수 있다는 보고³⁵⁾와도 일치하였다.

본 연구에서 HMB-45는 모든 예의 악성 흑색종에서 양성으로 발현되어 100%의 민감성을 보였으며 암종, 육종 및 림프종 등 비멜라닌 세포성 종양에서 모두 음성으로 관찰되어 특이성 또한 100%이므로 S-100단백의 86.7%보다 훨씬 높아 악성 흑색종 진단을 위한 표지자로 널리 사용될 수 있을 것이며, 특히 세포진 검사나 침생검 등에서 악성 흑색종의 진단에 많은 도움이 될 것으로 생각된다. 또한 악성 흑색종의 예후 결정에 가장 중요한 것은 침윤의 깊이인데³⁶⁻³⁷⁾ 본 연구에서 S-100 단백질의 양성반응은 모반세포 및 주위의 신경세포 등에서 관찰된 반면 HMB-45는 악성 흑색종 세포만이 특이하게 염색되어 종양의 침윤깊이를 보다 정확하게 측정 가능케 함으로서 악성 흑색종의 병기 결정에 도움이 될 수 있을것으로 생각되었다.

최근 악성 흑색종에 대한 치료방법의 하나로 면역요법이 사용되고 있는데 이러한 면역요법이 어려운 점은 항원표현의 이질성과 항원이 비종양에 보존(nontumor reservoirs)된 경우이다³⁸⁾. 실험결과로 보아 HMB45는 악성흑색종에 대해 100%의 특이성과 민감성을 지니고 있어 HMB-45가 악성흑색종의 면역요법의 한방법으로 사용될 수 있는 가능성을 시사하였다.

결 론

악성 흑색종의 진단에 유용한 특이적인 항체를 알아

보기 위하여 악성 흑색종 25예, 모반 46예, 암종, 육종 그리고 림프종 각 20예를 대상으로 HMB-45와 S-100 단백질에 대한 면역 조직화학적 염색을 시행하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1) HMB-45와 S-100 단백질에 대한 양성반응은 종양세포의 세포질에서 미만성으로 관찰되었다.

2) 멜라닌세포성 종양에서 HMB-45의 양성율은 악성 흑색종 100%, 복합 모반 92.0%, 진피내모반 0%였으며, S-100 단백질은 악성 흑색종 92.0%, 복합 모반 및 진피내 모반에서 100%의 양성율을 보여, S-100 단백질은 대부분의 멜라닌세포성 종양에서 높은 양성율을 보인데 반하여 HMB-45는 악성 흑색종 및 복합 모반에서만 높은 양성율을 나타냈다.

3) 암종과 육종 그리고 림프종 전례에서 HMB-45는 음성반응을 보였으나 S-100 단백질은 암종 1예(5.0%), 육종 7예(35.0%)에서 양성으로 관찰되었다.

4) 악성 흑색종에 대한 HMB-45의 민감성과 특이성은 모두 100%로 S-100 단백질의 민감성 92.0%, 특이성 86.7%에 비해 높았다.

이상의 성적으로 HMB-45 항체는 악성 흑색종에 대한 높은 민감성과 특이성을 보여 악성 흑색종과 다른 악성종양의 감별진단에 도움을 줄 것으로 사료되었다.

참 고 문 헌

- 1) 김동식, 이우복, 최인준, 최홍렬. 한국인 종양의 통계적 관찰. 대한의학협회지 1976; 19: 855-8.
- 2) Gown AM, Vogel AM, Hoak D, Gough F, McNutt MA. Monoclonal antibodies specific for melanocytic tumors distinguish subpopulation of melanocytes. Am J Pathol 1986; 123: 195-203.
- 3) Ordonez NG, Xiaolong JI, Hickey RC. Comparison of HMB-45 monoclonal antibody and S-100 protein in the immunohistochemical diagnosis of melanoma. Am J Clin Pathol 1988; 90: 385-90.
- 4) Rodriguez NA, McGavran MH. A modified DOPA reaction for the diagnosis and investigation of pigment cells. Am J Clin Pathol 1969; 52: 219-27.
- 5) Stevens A. Pigments and minerals, Theory and Practice of Histological Techniques. Edited by JD Bancroft, A Stevens. London, Churchill Livingstone, 1977; 186-208.
- 6) DeLellis RA, Dayal Y. The role of immunohistochemistry in the diagnosis of poorly differentiated malignant neoplasms. Semin Oncol 1987; 14: 173-92.
- 7) Mackay B, Ordonez NG. The role of the pathologist in the evaluation of poorly differentiated tumors and metastatic tumors of unknown origin. In: Greco FA, Oldham PK, eds. Tumors of unknown origin and poorly differentiated neoplasms. New York: Grune and Stratton 1986; 3-73.
- 8) Moore WB. A soluble protein characteristic of the nervous system. Biochem Biophys Res Commun 1965; 19: 739-44.
- 9) Brüggen J, Sorg C. Detection of phenotypic differences in human malignant melanoma cell lines and their variant sublines with monoclonal antibodies. Cancer Immunol Immunother 1983; 15: 200-5.
- 10) Nakajima T, Watanabe S, Sato Y, Ishihara K. Immunohistochemical demonstration of S-100 protein in human malignant melanoma and pigmented nevi. Gann 1981; 72: 335-6.
- 11) Nakajima T, Watanabe S, Sato Y, Kameya T, Shimosato Y, Ishihara K. Immunohistochemical demonstration of S-100 protein in malignant melanoma and pigmented nevus, and its diagnostic application. Cancer 1982; 50: 912-8.
- 12) Stefansson K, Wollmann R, Jerkovic M. S-100 protein in soft tissue tumor derived from Schwann cells and melanocytes. Am J Pathol 1982; 106: 261-8.
- 13) Nakamura Y, Becker LE, Marks A. S-100 protein in tumors of cartilage and bone. An immunohistochemical study. Cancer 1983; 52: 1820-4.
- 14) Bonnin JM, Rubinstein LJ. Immunohistochemistry of central nervous system tumors; Its contributions to neurosurgical diagnosis. J Neurosurg 1984; 60: 1121-33.
- 15) Nakajima T, Watanabe S, Sato Y, Shimosato Y, Motoi M, Lennert K. S-100 protein in Langerhans cells, interdigitating reticulum cells and histiocytosis X cells. Gann 1982; 73: 429-32.
- 16) Nakajima T, Watanabe S, Sato Y, Kameya T, Hiroto T, Shimosato Y. An immunoperoxidase study of S-100 protein distribution in normal and neoplastic tissues. Am J Surg Pathol 1982; 7: 715-27.
- 17) Ruitter DJ, Dingjan GM, Steijlen PM. Monoclonal antibodies selected to discriminate between malignant melanomas and nevocellular nevi. J Invest Dermatol 1985; 85: 4-8.
- 18) Hersey P. Review of melanoma antigens recognized by monoclonal antibodies. Their functional significance and applications in diagnosis and treatment of melanoma. Pathology 1985; 17: 346-54.
- 19) Cheresch DA, Varki AP, Varki NM, Stallcup WB, Levin J, Reisfeld RA. A monoclonal antibody recognizes an O-acetylated sialic acid in a human melanoma-associated ganglioside. J Biol Chem 1984; 259: 7453-9.

- 20) Imai K, Wilson B, Bigotti A, Natali P, Ferrones. A 94,000 dalton glycoprotein expressed by human melanoma and carcinoma cells. *J Natl Cancer Inst* 1982; 68: 761-9.
- 21) Atkinson B, Ernst C, Ghrist B. Identification of melanoma-associated antigens using fixed tissue screening of antibodies. *Cancer Res* 1984; 44: 2577-81.
- 22) Nakanishi T, Hashimoto K. The differential reactivity of benign and malignant nevocmelanocytic lesions with mouse monoclonal antibody. *Cancer* 1987; 59: 1340-4.
- 23) Dippold WG, Lloyd KO, Li LTC, Ikeda H, Oettgen HF, Old LJ. Cell surface antigens of human malignant melanoma; Definition of six antigenic systems with mouse monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 6114-9.
- 24) Maeda K, Jimbow K. Development of MoAb HMSA-2 for melanosomes of human melanoma and its application to immunohistologic diagnosis of neoplastic melanocytes. *Cancer* 1987 59: 415-23.
- 25) Thompson JJ, Herlyn MF, Elder DE, Clark W, Steplweski Z, Koprowski H. Use of monoclonal antibodies in detection of melanoma-associated antigens in intact human tumors. *Am J Pathol* 1982; 107: 357-61.
- 26) Garrigues JH, Tilgen W, Hellstrom I, Franke W, Hellstrom KE. Detection of a human melanoma-associated antigen, p97, in histological sections of primary human melanomas. *Int J Cancer* 1982; 29: 511-5.
- 27) Wick MR, Swanson Pe, Rocamora A. Recognition of malignant melanoma by monoclonal antibody HMB-45. An immunohistochemical study of 200 paraffin-embedded cutaneous tumors. *J Cutan Pathol* 1988; 15: 201-7.
- 28) Chase DR, Enzinger FM, Weiss SW, Langloss JM. Keratin in epithelioid sarcoma. An immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol* 1984; 8: 435-41.
- 29) Corson JM, Weiss LM, Banks-Schlegel SP, Pinkus GS. Keratin proteins and carcinoembryonic antigen in synovial sarcoma: an immunohistochemical study of 24 cases. *Hum Pathol* 1984; 15: 615-21.
- 30) Gatter KC, Alcock C, Heryet A. The differential diagnosis of routinely processed anaplastic tumors using monoclonal antibodies. *Am J Clin Pathol* 1984; 82: 33-43.
- 31) Esclamado RM, Gown AM, Vogel AM. Unique proteins defined by monoclonal antibodies specific for human melanoma. *Am J Surg* 1986; 152: 376-85.
- 31) Mishima Y. Melanotic tumors, Ultrastructure of normal and abnormal skin. Edited by AS Zelikson. Philadelphia, Lea and Febiger, 1968; 388-424.
- 33) Lund HZ, Stobbe GD. The natural history of the pigmented nevus; Factors of age and anatomic location. *Am J Pathol* 1949; 25: 1117-47.
- 34) Paul E, Illig L. Histochemische untersuchungen an dermalen naevuszellnaevi. *Arch Dermatol Forsch* 1974; 251: 133-45.
- 35) Cho MY, Lee KG, Kim MW. A study on immunohistochemical stain for S-100 protein, HMB-45 and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) of Spitz nevus compared with benign nevus and malignant melanoma. *Korea J Pathol* 1992; 26: 552-60.
- 36) Clark WH, From L, Bernadino EA, Mihm MC. The histogenesis and behavior of primary human malignant melanoma of the skin. *Cancer Res* 1969; 29: 705-27.
- 37) Breslow A. Thickness, cross-sectional areas and depth of invasion in the diagnosis of cutaneous melanoma. *Ann Surg* 1970; 172: 902-8.