

임신 초기의 자궁내막에 대한 병리조직화학적 연구

조선대학교 의과대학 병리학교실

이미자 · 기근홍 · 서재홍 · 전호중

A Histopathologic Studies for Endometrium of Early Pregnancy

Mi Ja Lee, M.D., Keun Hong Kee, M.D., Chae Hong Suh, M.D.
and Ho Jong Jeon, M.D.

Department of Pathology, College of Medicine, Chosun University

Endometrium of early pregnancy were compared with nonpregnant endometrium by immunohistochemical and ultrastructural techniques with respect to glandular and stromal elements of endometrium.

The results obtained were as follows:

1. The AS cell in decidua has all the features of actively secreting glandular epithelium and shows the pronounced arrays of glandular endoplasmic reticulum and moderate numbers of ribosomes ultrastructurally. Therefore the AS cell indicate considerable protein production, presumably contributing to both cell growth and the production of secretions.

2. The process of decidualization can be characterized morphologically and immunohistochemically by the accumulation of basement membrane-like materials, such as laminin and type IV collagen which may be related to the hormonal stimulation occurring during pregnancy and trophoblastic attachment.

3. The decidual cells show strong positive for vimentin, and some large mature decidual cells show weakly positive for lysozyme and α_1 -antitrypsin, which might represent more the sequential differentiation of stromal cells into decidual cells than origin of histiocytes.

4. Immunoreactivity with S-100 protein was found in glandular and stromal cells of decidua but negative in endometrium of nonpregnant women. So some humoral factors related to pregnancy stimulate expression of S-100 protein in glandular and stromal cells of decidua. (**Korean J Pathol 1995; 29: 492~501**)

Key Words: Early pregnancy, AS cell, Decidua, Immunohistochemistry, Ultrastructure

접 수: 1994년 1월 6일, 게재승인: 1995년 5월 18일

주 소: 광주광역시 동구 서석동 588, 우편번호 501-140

조선대학교 부속병원 해부병리과, 이미자

본 논문은 1992년도 조선대학교 교내 학술연구비 지원에 의하여 이루어졌음.

서 론

정상 자궁내막은 상피적 성분과 간엽성 성분으로 되어 있다. 초기임신시 자궁내막은 비대되고 분비성 변화가 더 두드러지나 태반의 용모와 같은 배아 요소가 없다면 초기 임신때의 자궁내막과 월경직전의 자궁내막을 형태학적으로 구분하는 것은 항상 쉽지 않다. 임신시 자궁내막은 독특한 선의 변화가 나타나는데 톱니모양의 굴곡(convolution)과 부채꼴모양(scalloping)이 두드러지고 비정형적인 핵의 변화, 즉 과염색증과 다형성을 나타내며 활발한 분비성 변화를 보이다가 진행됨에 따라 선의 비틀림(tortuosity)이 훨씬 덜해지고 상피층은 납작해져서 림프관이나 혈관과 구별하기가 어렵게 된다¹. 이러한 Arias-Stella (이하 AS라 약기함) 반응²이 퇴축 및 퇴화성 현상을 나타내는 것인지 또는 비특이적 용모조직의 호르몬 활동으로 인한 증식성과 분비성 변화인지에 관한 연구가 오래전부터 있어 왔다^{3,4}. Thrasher와 Richart⁵는 AS반응을 보이는 자의적 유산 6예에 대한 전자현미경적 연구에서 AS반응은 위축이나 변성이 아니고 세포의 과활동을 나타낸다고 언급하였다. Lloyd와 Fienburg⁶는 AS반응을 성질에 있어서는 퇴화성 및 퇴축성 변화라고 주장하였으며 태아 사망후 핵과 세포질내 수포성 변성으로 인해 세포가 크게 커지면서 핵농축과 핵막의 겹침(folding)으로 인해 핵의 비정형이 나타난다고 하였다.

임신시 탈락막내 간질세포는 커지고 다각형으로 되며, 핵주위로 풍부한 세포질을 갖게 되는데 이러한 세포를 탈락막세포라 하며 모자이크 또는 타일모양으로 정렬된다. 간질세포가 탈락막세포로 변화하는 이유에 대하여 많은 학자들은 내분비⁴, 영양배엽 침입의 조절⁷, 그리고 모체의 면역 반응에 의하여 발생한 거부반응으로부터 태아의 방어역할⁸을 나타내는 것이라고 생각하였다. Wynn⁹은 임신중과 비임신 중일때의 인체의 탈락막세포를 전자현미경을 이용하여 그 분화과정을 연구한 바 있는데, 탈락막세포들은 주로 progesterone의 영향으로 자궁내막 간질세포에서 발생한 것으로 생각하였다. 또한 Alerick¹⁰은 배자의 착상부위에 가까운 탈락막세포들이 수많은 lysosome 같은 구조를 갖고 있어서 임신때의 대형 성숙탈락막세포가 탐식세포로서의 기능을 가진 조직 구기원의 가능성은 추후 연구해 볼 과제라 하였다. Ulla등¹¹은 대형 성숙 탈락막세포들은 섬유소 또는 초자질이라 간주되는 세포의 기질에 의해 서로 분리되는데 이들 기질은 세포의 기저막 물질을 닮았으며

면역조직화학적 및 형태학적으로 임신초기와 말기때의 자궁내막 탈락막 세포들의 기저막 구성요소인 type IV collagen과 laminin형성에 대한 연구를 보고 하였다.

이에 저자는 초기임신에 있어서 자궁내막 선과 탈락막세포들의 변화 양상을 비교 분석하여 비임신시의 자궁내막과의 차이를 규명하고 탈락막세포들의 기원 및 기능을 보기위하여 vimentin, 조직구의 표지자인 lysozyme, α_1 -antitrypsin(α_1 -AT), 기저막 구성요소인 type IV collagen, laminin을 그리고 탈락막내 S-100단백의 존재를 평가하기 위하여 면역조직화학적 검사와 전자현미경적 관찰을 시행하였다.

연구재료 및 방법

1. 연구재료

1991년 1월부터 1993년 6월까지 2년 반동안 조선대학교 부속병원에서 실시된 자궁 내막 소파수술 생검표본중에서 통상적으로 10% 중성 포르말린 고정과 파라핀 포매후 hematoxylin-eosin 염색되었던 현미경 표본중 태반성 용모가 관찰된 초기 임신 70예, 용모가 없으면서 AS 반응으로 진단된 30예, 자궁내막 증식증 24예, 비임신중의 분비기 후기 또는 월경전기로 진단된 26예를 대상으로 하였고 periodic acid-Schiff 염색과 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 전자현미경적 검색은 임신초기와 비임신중의 자궁내막 조직 총 25예를 대상으로 하였다.

2. 연구방법

1) 광학현미경적 검사: 선택된 150예에 대해서는 병리조직학적 검색을 위해 10% 중성 포르말린에 고정되어 파라핀에 포매된 block을 4 μ m 두께의 연속 절편을 만들어 hematoxylin-eosin염색과 periodic acid-Schiff 염색을 실시하였다.

2) 면역조직화학적 방법: 대표적인 각각의 총 70예의 조직을 박절하여 탈파라핀과 함수과정을 거친 후 3% H₂O₂-methanol용액으로 5분간 반응시키고 phosphate buffered saline(PBS)으로 세척 후 normal goat serum을 5분간 반응시켰다. 각종 일차항체 type IV collagen, α_1 -antitrypsin(α_1 -AT), lysozyme, S-100 protein, vimentin과 laminin을 30분간 반응시킨후 PBS에 세척하여 이차항체(biotinylated universal antibody, Dako Co. CA, USA)를 10분간 가하고 PBS에 행군 후 streptavidin-biotin conjugate를 10분간 반응시키고 PBS에서 수세한 후 3-amino-9-ethylcarbazole(AEC)를 이용

하여 말색시킨 후 hematoxylin으로 대조 염색하고 crystal mount로 봉입하여 관찰하였다.

3) 초미세형태학적 검색: 조직편을 2% glutaraldehyde용액 (pH 7.4, 0.1M, cacodylate buffer, 4℃)에 2시간 동안 전 고정하고, OsO₄용액 (pH 7.4, 0.1M, cacodylate buffer)에 2시간 동안 고정한 후 다시 동일한 cacodylate buffer로 세척하여 계연 에칠안콜로 탈

수하고, propylene oxide를 침투시킨 다음 epon에 포매하여 60℃에서 72시간 열중합시켰다. 이 epon block을 1μm 두께로 미질하여 1% toluidine blue에 염색한 후 광학현미경으로 특징적인 부위를 LKB microtome으로 초박전편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색을 하여 JEM 100CXII형 전자현미경으로 관찰하였다.

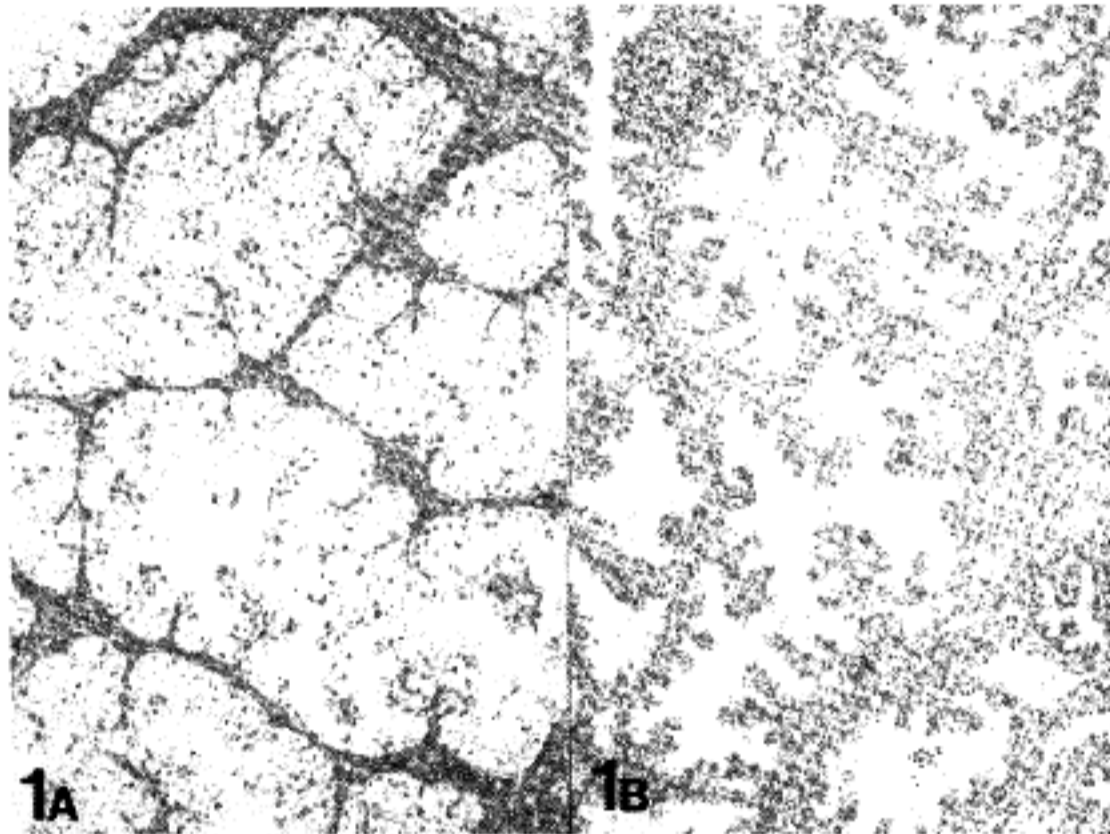


Fig. 1. AS phenomenon involves a focus of tightly packed glands whose coiling and collapse throw the lining epithelium into prominent papillary folds. This epithelium is composed of cells exhibiting marked nuclear pleomorphism and hyperchromatism. The cytoplasm may be strikingly clear(A) or densely eosinophilic(B).

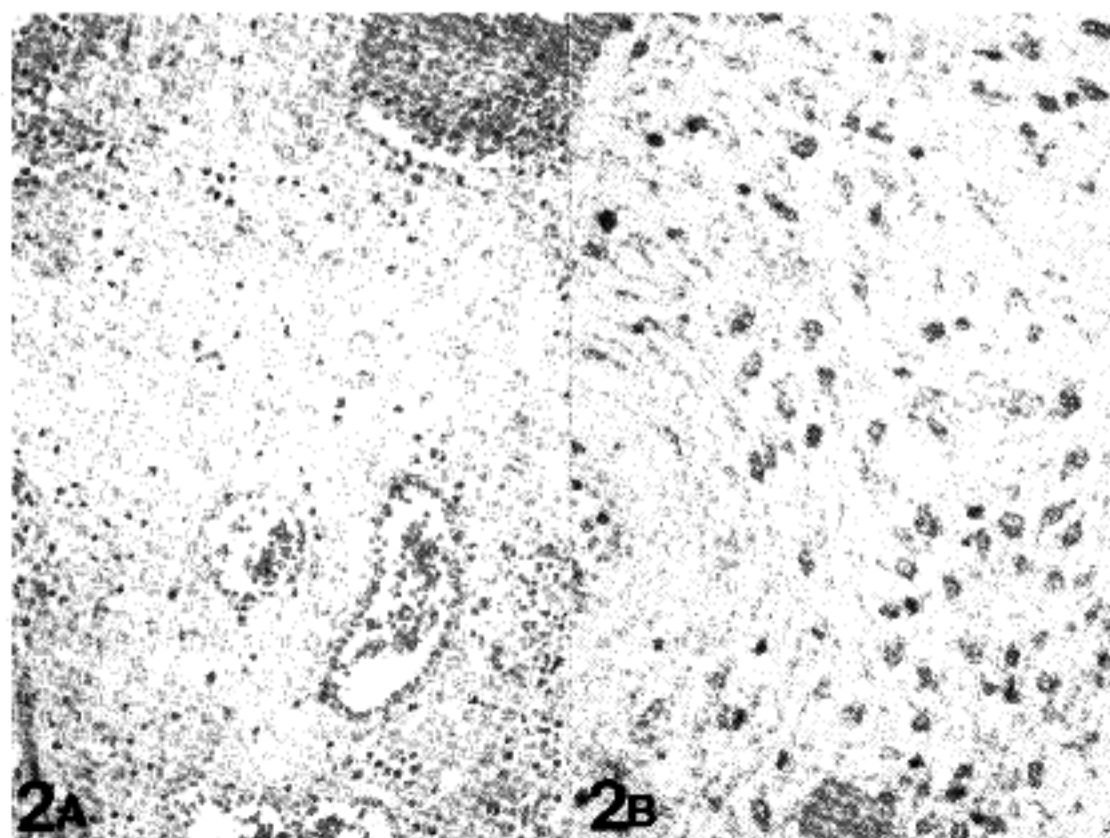


Fig. 2. Large mature decidua cells (A) show round and vesicular nuclei with abundant cytoplasm. The cytoplasmic margins are easily visualized. Small decidua cells(B) show slightly elongated and vesicular nuclei with scanty cytoplasm in edematous stroma.

연구성적

1. 광학현미경적 소견

탈락막내의 선세포들은 AS 현상을 나타내는데 서로 단단하게 밀집되어 관찰되며 극히 알곡되고 선을 구성하는 상피들이 주로 유두상 형태를 취하고 있다

(Fig. 1A, B). 이 선상피는 두드러지게 다형성과 과염색증을 보여주는 세포로 구성되며 세포질은 공포화되어 투명하게 보이거나 짙게 호산성으로 보였다. 이러한 세포들은 PAS에 양성 반응을 보였다.

임신시의 탈락막 세포는 Ulla¹¹의 연구를 참고로 크기에 따라 대형성숙탈락막세포, 소형세포로 구분하여 관찰하였다. 대형 성숙 탈락막세포는 주로 임신자궁내막의 간질내에 크고 성숙된 상피양 탈락막

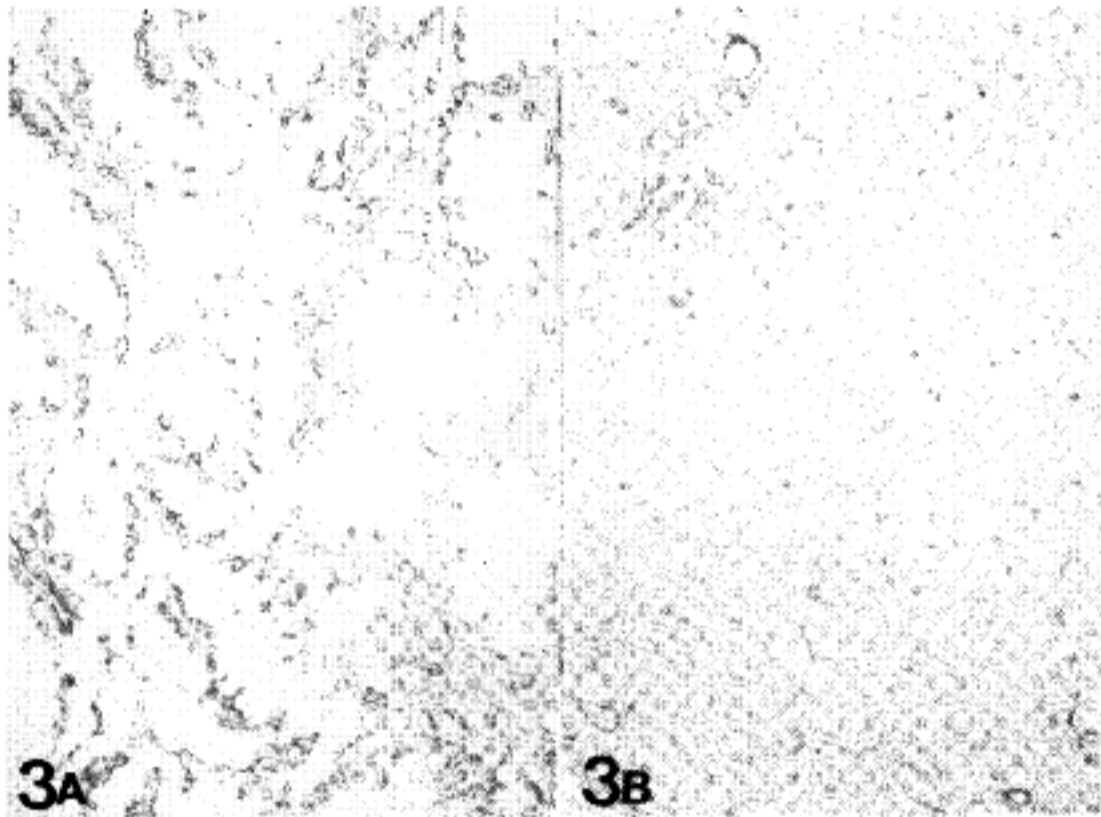


Fig. 3. AS reaction in deeper glands(A) and decidua stromal cells(B) are reactive with S-100 protein, ABC stain.

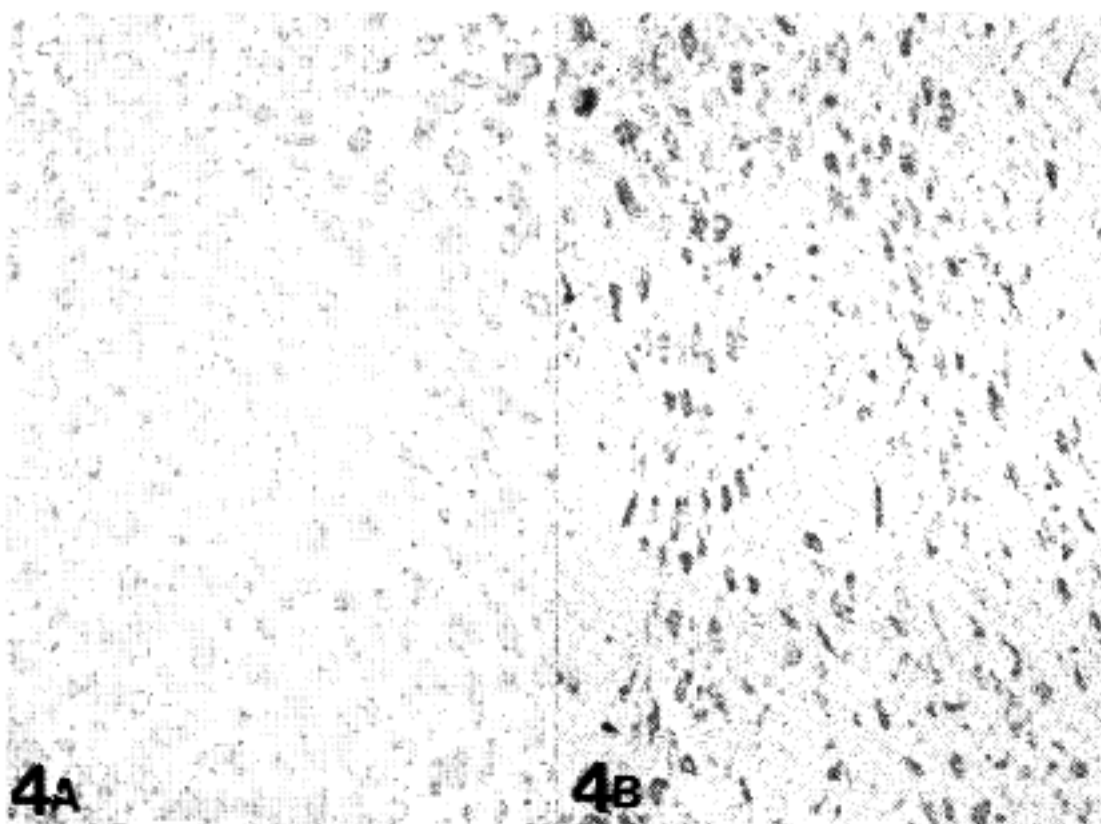


Fig. 4. Large mature(A) and small decidua cells(B) show intense positive stain for vimentin, ABC stain.

세포들로 구성되었다. 세포질의 양은 대단히 풍부하고 세포의 경계가 분명하게 관찰되었다. 그리고 핵은 둥글고 소포성이었다 (Fig. 2A). 소형 탈락막세포는 후기 분비기 및 자궁내막증식기와 초기 임신때 관찰되었으며 이들 세포는 작고 길었고 세포질은 핵에 비하여 적었으며 핵은 비교적 둥글고 소포성이었다 (Fig. 2B).

2. 면역조직화학적 소견

1) 자궁내막 상피세포(Table 1): S-100 protein에 대

한 반응성은 임신초기 탈락막내 표층부위의 선상피 세포, AS 현상을 나타내는 심부 선상피 세포, 탈락막 표면을 덮고 있는 상피세포 그리고 탈락막 간질 세포에서는 양성소견이었다 (Fig. 3A, B). 그러나 비 임신중의 분비기 후기의 자궁내막의 선과 간질세포에서는 음성반응이었으며, 또한 자궁내막 증식중의 선상피세포나 간질세포에서도 음성반응이었다.

2) 자궁내막 간질세포(Table 2): 대형 성숙 탈락막 세포는 vimentin(Fig. 4), laminin (Fig. 5A)과 type IV collagen (Fig. 5B)에 강하게 염색되었으며 특히 la-

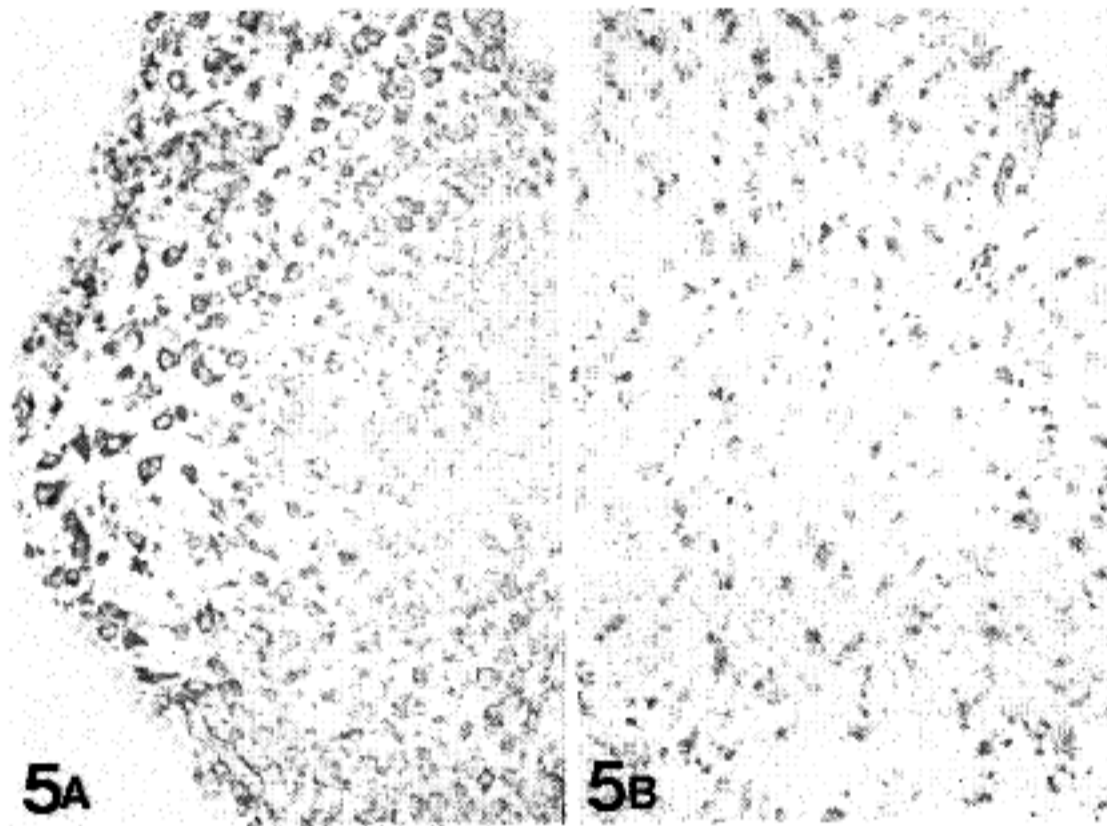


Fig. 5. The large mature decidual cells are individually encircled by intensely stained laminin-positive materials(A) and positive for type IV collagen(B), ABC stain.



Fig. 6. Ultrathin section of AS cell shows the pronounced endoplasmic reticulum and polyribosome lie in the characteristic location above the nucleus, $\times 4,000$.

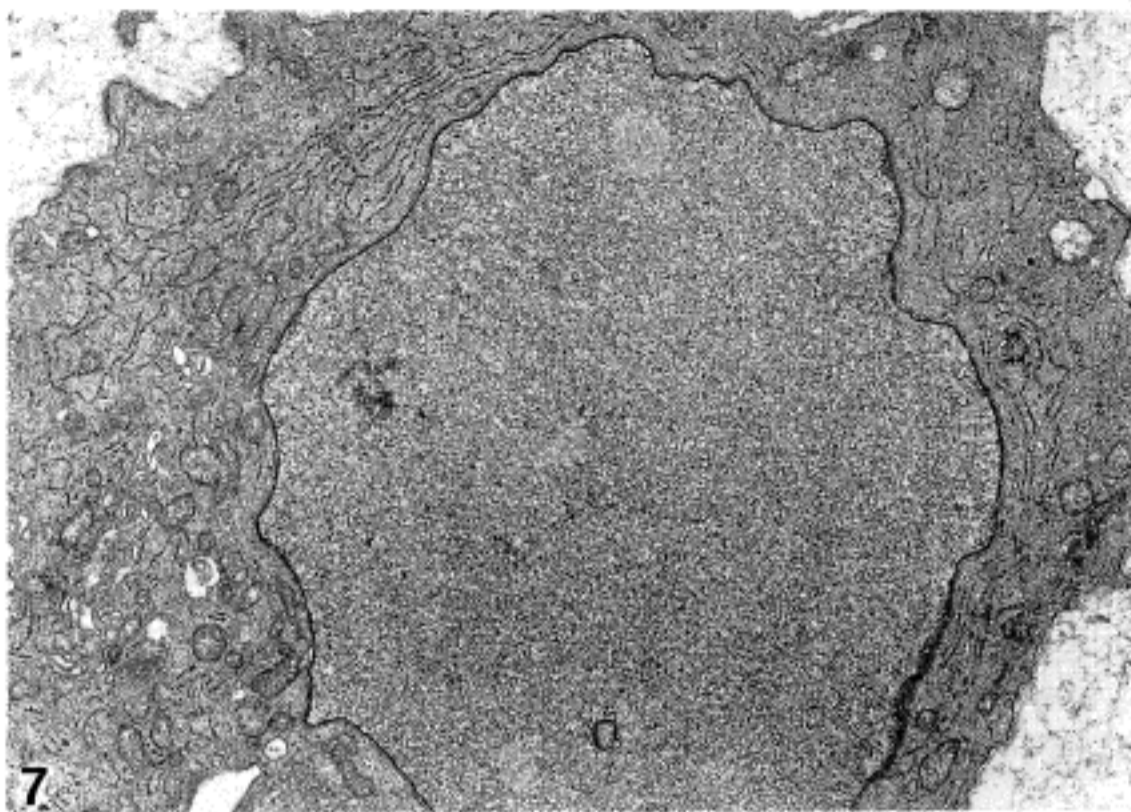


Fig. 7. Ultrathin section of mature decidua cell shows most of the endoplasmic reticulum arranged parallel to the length of the cells. Fibrillar material is condensed around the surface of the stromal cell, $\times 5,300$

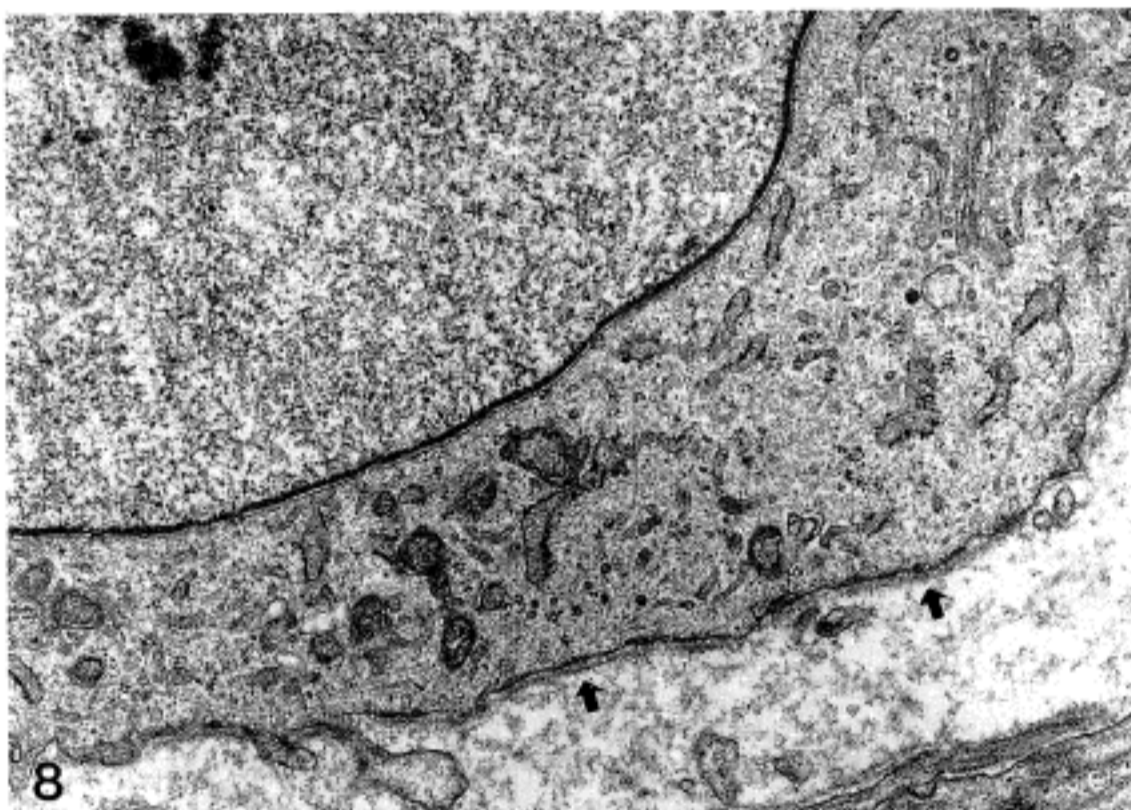


Fig. 8. Electron micrograph of a large mature decidua cells with prominent pericellular basement membrane (arrows), $\times 10,000$.

색되는 핵을 가진 세포로 구성된다. 이 세포들은 극성(polarity)을 소실하여 제멋대로 정렬되어 있기도 한다. 비정상적 자궁내막의 변화는 자궁내막의 선과 표면 상피에 모두 영향을 미치며 이 현상의 강도는 영양배엽의 착상 위치와는 관계가 없다. 자궁내막의 과분비성 선상피는 progesterone에 의해서 유발되며 착상을 위한 적절한 환경을 제공한다.

AS 반응시의 세포질은 두드러지게 과공포화되어 투명해지거나 (투명세포) 짙은 호산성 (dark cells)으로 된다. 때때로 이 호산성 세포들은 hobnail 양상으

로 선을 배열하기도 한다. 비정상적 자궁내막의 변화를 관찰하여 첫째, 정상 임신의 진단, 둘째, 분만 후와 유산후 출혈성 자궁증의 진단, 셋째, 자궁외 임신의 진단, 넷째, 음모성 종양의 진단, 다섯째, 자궁내막 암종과의 감별, 그리고 여섯째, progestagens 또는 estrogen- progestagen combinations를 받은 여성에서 나타난 비정상적 자궁내막의 변화와의 감별등에 그 진단적인 가치를 두고 있다고 하였다⁴.

전자현미경상 AS반응 선의 투명세포들은 보통 풍부한 glycogen을 가지며 이는 PAS 염색으로 증명된

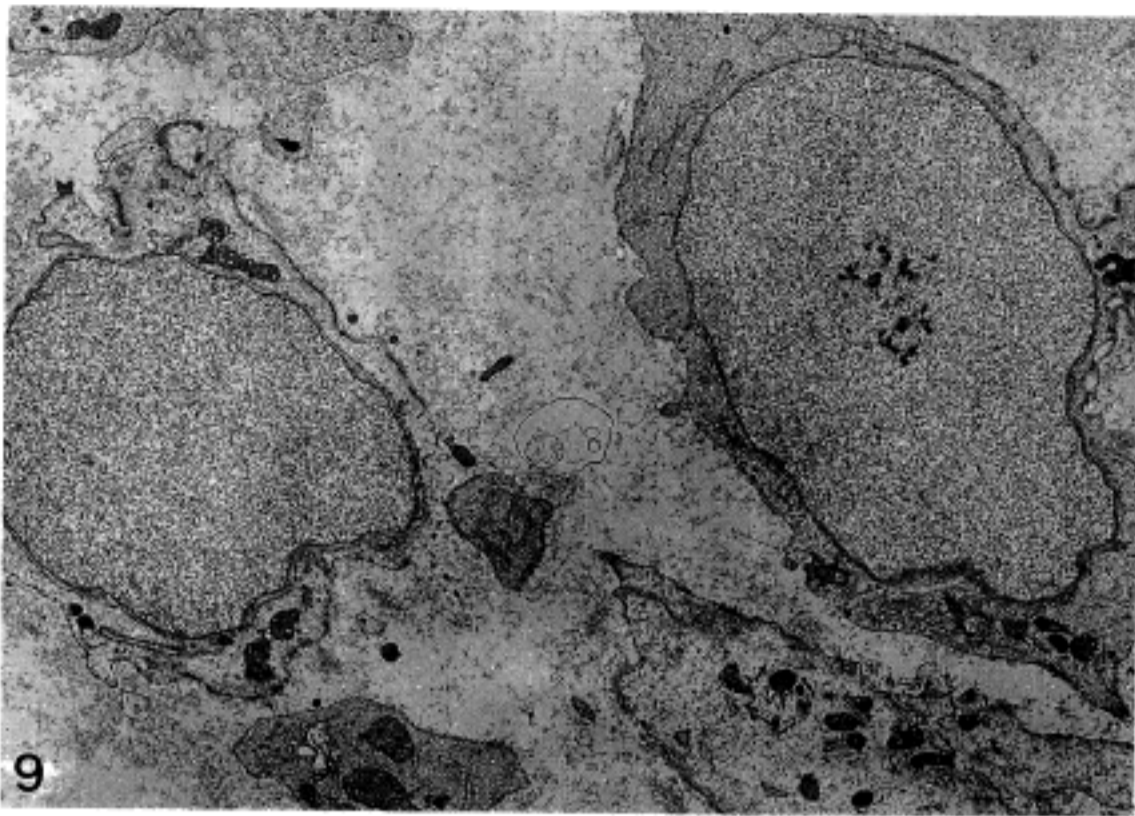


Fig. 9. Electron micrograph of two small decidua cells. No extracellular material is seen around these cells, $\times 4,000$

다. 짙은 호산성세포 (dark cell)들은 풍부한 조면소포체(RER)가 확장되어 보이거나 핵주위 바로 위에 평행하게 밀집되어 있었으며 미토콘드리아와 같은 소기관을 갖는다⁵. 조면소포체와 분비산물은 AS반응세포에서 대사상태의 표지자로서 고려될 수 있으며 이러한 변화는 선세포들이 조면소포체의 도움으로 정상 산물을 과도하게 생산하는 과분비성 활동을 지적할 수 있다. 그러므로 AS반응세포에서 조면소포체의 두드러진 배열과 중정도의 리보솜은 상당한 단백질생성을 나타내며 세포성장과 분비물 생성에 관여할 것이므로 AS 세포들은 초미세형태상 활발한 분비성 선상피의 특징을 가지며 변성이나 퇴축상태와는 일치하지 않음을 알 수 있었다.

Yasuhiro등¹⁶은 인체 태반에 대한 여러가지 조직표지자를 찾던 중 우연히 초기임신중의 탈락막내 선상피세포와 경부용종에서 S-100단백에 강하게 반응하는 것을 발견하였다. 본 연구에서도 S-100단백은 임신초기의 탈락막내의 표층부위의 선상피 세포, AS 현상을 나타내는 심부부위의 선상피 세포, 탈락막표면을 덮고 있는 상피세포와 탈락막 간질세포에서는 양성이었으나, 비임신중의 분비기 후기의 자궁내막의 腺과 간질세포에서 음성반응이었으며 또한 자궁내막 증식중의 선상피세포나 간질세포에서도 음성반응이 관찰되었다. 그러나 이러한 이유를 설명하기가 어렵고 S-100단백의 기능에 대해서도 명확히 알려져 있지 않지만 임신과 관계된 체액인자들이 탈락막내선과 간질세포에서의 S-100단백 발현을 자극할 것으로 생각된다.

자궁내막 간질은 임신시 특징적인 탈락막화를 겪으며 탈락막세포는 상피양내지 다각형 모양이 되고 작고 둥근 핵들은 일반적으로 풍부한 호산성의 공포화되어 있는 세포질의 중심에 위치하며 세포질은 당원과 당단백을 풍부하게 갖게 된다. 월경주기의 초기 증식기동안에는 빈약하고 불분명한 세포질과 짙은 난원형 내지 방추형의 핵을 갖는데 이러한 미분화된 모양은 전자현미경상 세포질내 소기관이 결핍되었음을 반영하며 월경주기가 진행됨에 따라 간질세포는 더욱 더 길어지고 더 많은 세포질을 얻게된다. 후기 증식기와 분비기에는 초미세형태학적 구조상 조면소포체와 세포내외 collagen 양의 증가를 보여준다. 분비기 후기에 간질세포는 둥글어지고 경계가 분명한 더 많은 세포질을 갖게되며 중앙에 위치한 수포성의 핵과 종종 현저한 핵소체를 보이게 된다. 이런 Mullerian 간질변형을 탈락막화라 하고 분비기 후기에 간질세포가 부분적으로 발전하는 것을 전탈락막화라 한다¹⁷. 이들 탈락막 세포는 중정도의 전자 밀도를 갖는 과립성 물질에 둘러싸이는 기저막을 형성하며 복잡한 세포사이의 interdigitation이나 결합소체는 관찰할 수 없다.

면역조직화학 검사에서 조직구의 표지자로 알려진 lysozyme 및 α_1 -AT에 대형 성숙탈락막세포들 중 일부에서 약양성반응을 보이고 소형세포와 전탈락막세포는 음성이었다. 그러므로 대형 성숙탈락막세포들 중 일부를 조직구 기원으로 생각할 수 있으나¹⁸, Jerome¹⁹은 자궁내막의 조직화학적 및 전자현미경적 연구에서 대식세포들이 탈락막세포들 사이에 있으

며, 이 세포들은 리소솜을 많이 소유하고 있고 형태학적으로 탈락막세포와 유사하다고 하였다.

Laminin은 태반성 음모의 기저막의 lamina lucida, 태반의 양막, 제대, 자궁내막의 선과 혈관에서 인지되는데²⁰ 다소 연속적인 선상의 막으로서 탈락막 세포주위를 둘러싸는 양상으로 나타난다. 기저막 성분으로 type IV collagen, proteoglycan, noncollagenous proteoglycans, 특히 entactin, laminin과 fibronectin을 포함한 여러 거대분자들이 최근에 보고되었다. 이러한 기저막 물질은 비탈락막화 자궁내막에서는 나타나지 않으므로 임신과 영양배엽 착상동안에 일어나는 호르몬 자극에 의한 간질세포의 특이한 형태학적 변화와 관계가 있을 것이라고 추측된다. 본 연구에서와 같이 대형 성숙탈락막세포들은 세포사이에 laminin과 type IV collagen에 양성반응을 보였고 전자현미경 검사상 기저막을 닮은 다소 연속적인 과립성 경계인 기저막 침착을 보였으나 소형 탈락막세포와 전탈락막세포에서는 laminin과 type IV collagen에 음성이고 기저막을 볼 수 없었다. 탈락막 세포에서의 laminin 및 type IV collagen의 인지는 호르몬 자극과 관계가 있으며⁷, 기저막같은 물질들은 세포부착시 중요한 인자임을 보여주므로^{21,22} 임신 초기동안 자궁내막에 영양배엽 세포의 부착에 관여할 것으로 생각된다. 또한 세포와 세포의 접합을 보다 강하게 하여 배자의 착상때 생기는 영양배엽의 침입을 막는 방어벽으로서 작용할 가능성을 시사해 준다.

결 론

임신초기에 있어서 자궁내막 선과 탈락막세포들의 면역조직화학적 및 전자현미경적 관찰을 통하여 그 변화 양상을 비교 분석하여 비임신시의 자궁내막과의 차이를 규명하고 탈락막세포들의 기원 및 기능을 보기 위하여 본 연구를 시행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 탈락막내 AS 반응을 보이는 세포들은 전자현미경 검사상 활발한 분비성의 선상피세포의 특징을 가지며 조면소포체의 두드러진 배열과 중증도의 리소솜이 관찰되는 점으로 미루어 AS 반응세포는 상당한 단백 합성을 나타내며 세포 성장과 분비물 생성에 관여한다.

2) 탈락막화 과정은 면역조직화학적 및 전자현미경적 검사상 탈락막 세포에서 기저막 성분과 유사한 물질(laminin, type IV collagen등)의 축적이며 이러한 물질들은 임신동안의 호르몬 자극과 관계가 있을 것으로 생각된다.

3) 탈락막세포들은 vimentin에는 모두 양성반응이 있으나 일부 대형 성숙탈락막세포에서만 lysozyme과 α_1 -antitrypsin에 약양성반응을 보여 조직구 기원이라기 보다 간질세포가 성숙 분화한 것이다.

4) S-100단백이 임신초기의 탈락막내 선과 간질세포에서 양성반응인 반면 비임신경우에서는 음성반응인 것과 비교해 볼 때 임신과 관계된 체액인자들이 S-100단백 발현을 자극할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Novak ER, Woodruff JD. Novak's gynecologic and obstetric pathology with clinical and endocrine relations, 8th ed., Philadelphia, WB Saunders, 1979: 184-189.
2. Arias-Stella J. Atypical endometrial changes associated with the presence of chorionic tissue. Arch Pathol 1954; 58: 112-128.
3. Beswick IP, Gregory MM. The Arias-Stella phenomenon and the diagnosis of pregnancy. J Obstet Gynecol 1971; 78: 143-148.
4. Arias-Stella J. Atypical endometrial changes produced by chorionic tissue. Human Pathol 1972; 3: 450-453.
5. Thrasher TV, Richart RM. Ultrastructure of the Arias-stella reaction. Am J Obstet Gynecol 1972; 112: 113-120.
6. Fienburg R, Lloyd HED. The Arias-Stella reaction in early normal pregnancy. An involutinal phenomenon. Human Pathol 1974; 5: 183-190.
7. Frame LT, Wiley L, Rogol AD. Indirect immunofluorescent localization of prolactin to the cytoplasm of decidual and trophoblast cells in human placental membranes at term. J Clin Endocrinol Metabol 1979; 49: 435-437.
8. Pijnenborg R, Dixon G, Robertson WB, Brosens I. Trophoblastic invasion of human decidua from 8 to 18 weeks of pregnancy. Placenta 1980; 1: 3-45.
9. Wynn RM. Ultrastructural development of the human decidua. Am J Obstet Gynecol 1974; 118: 652-670.
10. Alerick OW, Allen CE. Light and electron microscopic examination of the mature decidual cells of the rat with emphasis on the antimesometrial decidua and its degeneration. Am J Anat 1985; 172: 1-29.
11. Ulla MW, Faber M. Immunochemical and ultrastructural assessment of the nature of the pericellular basement membrane of human decidual cells. Lab Invest 1985; 53: 624-633.
12. Arias-Stella J. A topographic study of uterine epithelial

- atypia associated with chorionic tissue : Demonstration of alteration in the endocervix. *Cancer* 1959; 12: 782-790.
13. Cariani DJ, Guderian AM. Gestational atypia in endocervical polyps: The Arias-Stella reaction. *Am J Obstet Gynecol* 1966; 95: 589-590.
 14. Moller NE. The Arias-Stella phenomenon in endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1959; 38: 271-274.
 15. Birch HW, Collins CG. Atypical changes of genital epithelium associated with ectopic pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1961; 81: 1198-1208.
 16. Yasuhiro N, Yuko M, Yoshitaka O, et al. S-100 protein in glands within decidua and cervical glands during early pregnancy. *Hum Pathol* 1989; 20: 1204-9.
 17. Kearns M, Lala PK. Life history of decidual cells : A review. *Am J Reprod Immunol* 1983; 3: 78-82.
 18. Taylor CR. A diagnostic tool for surgical pathologists. *Immunomicroscopy* 1986; 19: 153-161.
 19. Jerome LN, James AS. Human chorionic trophoblast, decidual cells and macrophages: A histochemical and electron microscopic study. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 140: 268.
 20. Charpin C, Kopp F, Pourreau SN. Laminin distribution in human decidua and immature placenta. An immunoelectron microscopic study. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151: 822-827.
 21. Terranova VP, Rohrbach DH, Martin GR. Role of laminin in the attachment of PAM 212(epithelial cells to BM collagen. *Cell* 1980; 22: 719-726.
 22. Enders AC, Schlaffe S. A morphological analysis of the early implantation stages in the rat. *Am J Anat* 1967; 120: 185-226.
 23. Porter DG. Observations on the development of mouse blastocysts transferred to the testis and kidney. *Am J Anat* 1967; 21: 73-86.
-