

## 소뇌 모세혈관성 혈관모세포종의 간질 세포 성상에 관한 연구

- 면역조직화학적 분석 -

연세대학교 의과대학 병리학교실

홍 순 원 · 김 태 승 · 한 지 영

### Nature of Stromal Cells in Cerebellar Capillary Hemangioblastoma

- Immunohistochemical analysis -

Soon Won Hong, M.D., Tai Seung Kim, M.D. and Ji Young Han, M.D.

Department of Pathology, Yonsei University College of Medicine

The origin of the stromal cell of cerebellar hemangioblastoma has long been studied electron microscopically and immunohistochemically. The results and theories about the stromal cell origin are variable and plentiful. However, the exact origin of the stromal cell remains controversial. The present study is aimed to elucidate the nature of the stromal cell of cerebellar hemangioblastoma.

Ten cases of hemangioblastoma in Severance Hospital were used for immunohistochemical analysis of the stromal cell. The immunohistochemical staining of GFAP, S-100 protein, NSE,  $\alpha$ -1-antichymotrypsin, cytokeratin, CD 68, factor VIII related antigen, and synaptophysin were performed.

The results were as follows; GFAP and S-100 protein were stained mainly but weakly in spindle cell and cellular process. NSE was stained mainly in foam cells, and 6 cases among them revealed strong reaction.  $\alpha$ -1-antichymotrypsin was stained in a few foam cells of 5 cases. Cytokeratin, CD 68, factor VIII related antigen, and synaptophysin showed negative reaction.

Based on these results, it is considered that the origin of the stromal cell is histiocytic or neurogenic rather than glial. The weak positivity of GFAP and S-100 protein may support the neurogenic origin but  $\alpha$ -1-antichymotrypsin positivity does not support the possibility. The positivity of GFAP and S-100 protein supports the phagocytic action of histiocytic cell and suggests histiocytic origin rather than neurogenic. (*Korean J Pathol* 1995; 29: 584~589)

**Key Words:** Hemangioblastoma, Immunohistochemical stain, Stromal cell

접 수: 1994년 12월 1일, 게재승인: 1995년 8월 17일

주 소: 서울시 서대문구 신촌동 134, 우편번호 120-752

연세대학교 의과대학 병리학교실, 김태승

\*본 연구는 연세대학교 의과대학 조교 연구비로 이루어졌음.

서 론

소뇌의 모세혈관성 혈관모세포종의 간질 세포 기원에 대해서 전자 현미경적 또는 면역 조직화학적 연구들이 많이 있었으나<sup>1-7</sup> 종양의 발생이 혈관이 풍부한 연수막 구조에서 일어나므로 전자현미경적 또는 면역조직화학적 연구 결과와는 다소 차이점이 있다 하더라도 기본적으로 혈관형성세포 기원일 것으로 생각되고 있다<sup>4-7</sup>.

과거에 문헌에서는 이 종양의 간질 세포가 혈관 내피 세포의 성질을 가지고 있을 것으로 생각하여 Factor VIII-related antigen과 Ulex에 대한 검색을 시행하였으나 모두 음성반응을 보였고<sup>3,8-10</sup>, 외막 세포 기원일 가능성을 생각하여 Actin과 Desmin에 대한 검색을 시행하였으나 역시 음성반응을 보였으며<sup>8,9</sup>, 탐식 세포 기원일 가능성은 Lysozyme에 음성반응을 보이므로 배제되었다<sup>8,9,10</sup>. 성장교세포에 대한 가능성은 GFAP염색이 개발된 이래 여러 보고자가 시행하였고, 보고자마다 많은 결과의 차이와 해석의 차이를 보였다<sup>5,10,11</sup>. 그 외에 다른 염색으로는 α-1-antichymotrypsin, α-1-antitrypsin 및 Leu7등을 시행하였고 이들은 대부분 일부의 종양 세포가 양성 반응을 보였으나<sup>8,12</sup>, S-100 protein과 NSE에 대한 염색은 보고자마다 다소의 차이를 보였다<sup>8,13-17</sup>.

연구자들은 1986년부터 1992년 8월까지 신촌 세브란스에서 진단된 소뇌 모세혈관성 혈관모세포종(cerebellar capillary hemangioblastoma) 10예를 대상으로 의

무 기록을 참고하고 문헌상 면역 조직 화학 염색의 결과나 해석에 차이를 보였던 종목에 대해서 염색을 시행하여 간질 세포의 기원을 이해하고 해석하는데 도움이 되고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

1986년부터 1992년 8월까지 신촌세브란스에서 병리조직학적으로 진단된 소뇌모세혈관성 혈관모세포종 10예를 대상으로 하였다.

2. 방 법

1) 환자의 의무기록을 참고하여 나이, 성별, 과거

Table 1. Dilution and source of immunohistochemical stain

	Dilution	Source
GFAP	1 : 200	Dako
NSE	1 : 100	Dako
S-100 protein	1 : 1500	Dako
α-1-antichymotrypsin	1 : 100	Dako
CD 68	1 : 50	Dako
Synaptophysine	1 : 20	Dako
Factor VIII related antigen	1 : 50	Dako
Keratin	1 : 100	Biogenes

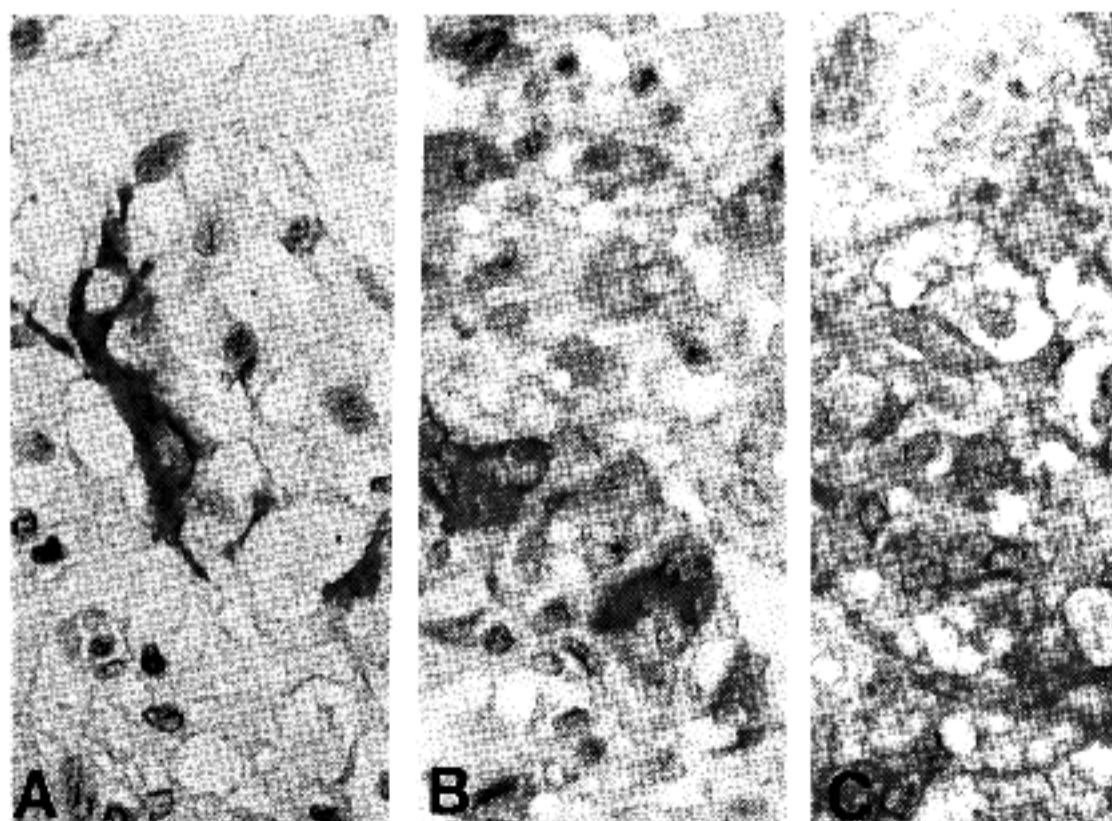


Fig. 1. Immunohistochemical stain for GFAP and S-100 protein reveals strong positive staining pattern at few spindle cell. This pattern is labelled as +(A). Immunohistochemical stain for α-1 antichymotrypsin reveals positive staining pattern at few foam cell. This pattern is also labelled as +(B). Immunohistochemical stain for NSE reveals strong and weak positive staining pattern at many foam and spindle cells. This pattern is labelled as ++ to +++ according to the cellular distribution(C).

력 및 종양의 위치 성상을 알아보고, 혈액검사상 혈색소 수치, 적혈구 수 및 헤마토크릿 등을 조사하고 Erythropoietin은 검사가 시행된 경우 참고하였다.

2) 생검된 소뇌조직은 10% 중성 포르말린 용액에 고정된 후 연속절편하여 통상의 조직표본 제작방법에 따라 탈수, 투명, 침투의 과정을 거친후 파라핀 포매하고 3  $\mu$ m의 두께로 박절하여 Hematoxylin-eosin염색을 시행하였고, 또한 이들은 GFAP, NSE, S-100 protein, factor-VIII related antigen,  $\alpha$ -1 antichymotrypsin, Keratin, Synaptophysin, CD-68에 대한 면역조직화학염색을 시행하였다(Table 1).

조직학적 검색으로 간질세포의 형태를 나누어 보았다. 면역조직화학 염색의 검색은 다음과 같이 분류 평가하였다. 염색되는 세포가 둥글고 포말성 세포자체인지 또는 주변의 길고 세포돌기가 있는 세포인지, 아니면 두 가지 세포 모두에 염색되는지 등으로 나누고, 각 세포에서의 염색범위와 양에 따라서 약양성(+) 양성(++) 강양성(+++)로 나누었다(Fig. 1).

## 결 과

### 1. 임상소견

환자의 나이는 30세에서 60세까지로 평균 44세였으며 남녀비는 7:3이었다. 이들중 2예에서 재발하였으나 다른 부위에 종양의 전이는 없었다. 2예는 소뇌에서 다발성으로 분포하였고 1예는 소뇌뿐 아니라 경수 부위에서 발생하였다. 검사실 소견상 의의있는 변화를 보인 예는 1예로써 혈색소가 19.0mmHg이고,

헤마토크릿이 62.0이며, 적혈구수가 1ml당 714만개였다(Table 2).

### 2. 광학현미경 소견

종양은 크고 작은 혈관 구조가 근간을 이루며 울혈과 출혈이 동반되어 있었다. 고배율하에서 이런 혈관 구조 사이에 내피세포나 외막세포외에 간질세포가 관찰되는데 이는 부위에 따라서 그모양이나 수가 다르다. 혈관 구조가 많고 그 혈관 내강이 비교적 넓으며, 혈관과 혈관사이 기질이 눌린 부위는 간질세포의 수도 적지만 세포의 크기도 작고 세포질의 포말성변화가 적거나 공포가 너무 커서 세포가 용해되는 것처럼 보인다(Fig. 2A). 다른 부위는 혈관구조가 아주 작아서 하나의 내피세포로 구성된 듯하며 혈관과 혈관사이의 간질세포는 많아서 무리를 이루고 세포질은 많으며 분홍빛 간유리 모양이나 포말성이고 핵은 크고 농염되어 있다(Fig. 2B). 이런 두가지 양상은 한 종양내 섞여 있을 수 있고 종양전체를 한가지 양상으로 구성하기도 한다.

### 3. 면역조직화학적 염색소견(Table 3)

GFAP염색에 대해 1예만 포말성 간질세포주변으로 싸는 모양으로 양성반응을 보였는데 그 경계가 불규칙하고 포말세포의 세포질을 보이지만 핵을 가지지 않으므로 세포인지 조차 불분명하였다. 상기 예를 포함한 전예가 일부 종양과 정상조직과의 경계부나 종양내 큰 혈관 주변에 방추형의 양성반응을 보였다(Fig. 1A).

Table 2. Clinical and laboratory findings

No. of case	Age/ Sex	Recurrence of tumor	Location & multiplicity	Laboratory findings			
				Hb mmHg	Hct	No. of RBC $10^6$ /ml	Erythropoietin
1	45/M	-	left, multiple	15.5	43.7	4.5	6.05
2	33/F	-	right, upper cervical	11.5	35.8	3.66	
3	36/M	-	left	16.5	47.9	4.0	<4.4
4	30/M	-	central	14.2	43.2	4.38	18.12
5	60/M	+	right, multiple	15.3	48.6	5.16	
6	49/F	-	central	11.4	35.4	5.2	
7	37/M	-	left	17.0	48.3	5.16	18.46
8	46/M	-	right	12.7	36.7	3.73	
9	50/F	-	right	15.8	47.0	5.8	
10	41/M	+	left	19.0	62.0	7.14	

S-100염색에 대해서는 GFAP와 거의 비슷한 양상으로 1예만 포말세포 주변의 정체불명의 부위에 양성반응을 강하게 보였고 5예는 미약하게나마 혈관 주위나 종양 경계부의 방추형세포에 양성반응을 보였다(Fig. 1A).

$\alpha$ -1 antichymotrypsin에 대해서 5예에서 일부의 포말성세포에 양성소견을 보이며 일부 방추형세포에서 강한 양성소견을 보이기도 하였다(Fig. 1A).

NSE염색은 간질세포가 크고 많으며 세포질이 간유리 모양이나 포말성일때 양성이며 간유리 모양일

때는 세포질에 고르게 분포하고 이세포가 큰 세포 사이에 눌린 모양일때는 농축되어 좀더 진하게 염색되며 망상형 조직소견을 보였던 3예는 미약하게 양성반응을 보였고 조직양이 적었던 1예는 음성반응을 보였다(Fig. 1C).

Factor-VIII related antigen에 대해서는 혈관세포에 양성이며, 일부 간질세포에 미약하게 퍼지듯이 양성소견을 보이는 부위가 관찰되었다.

CD-68이나 Cytokeratin, Synaptophysin에 대해서는 전예가 음성반응을 보였다.

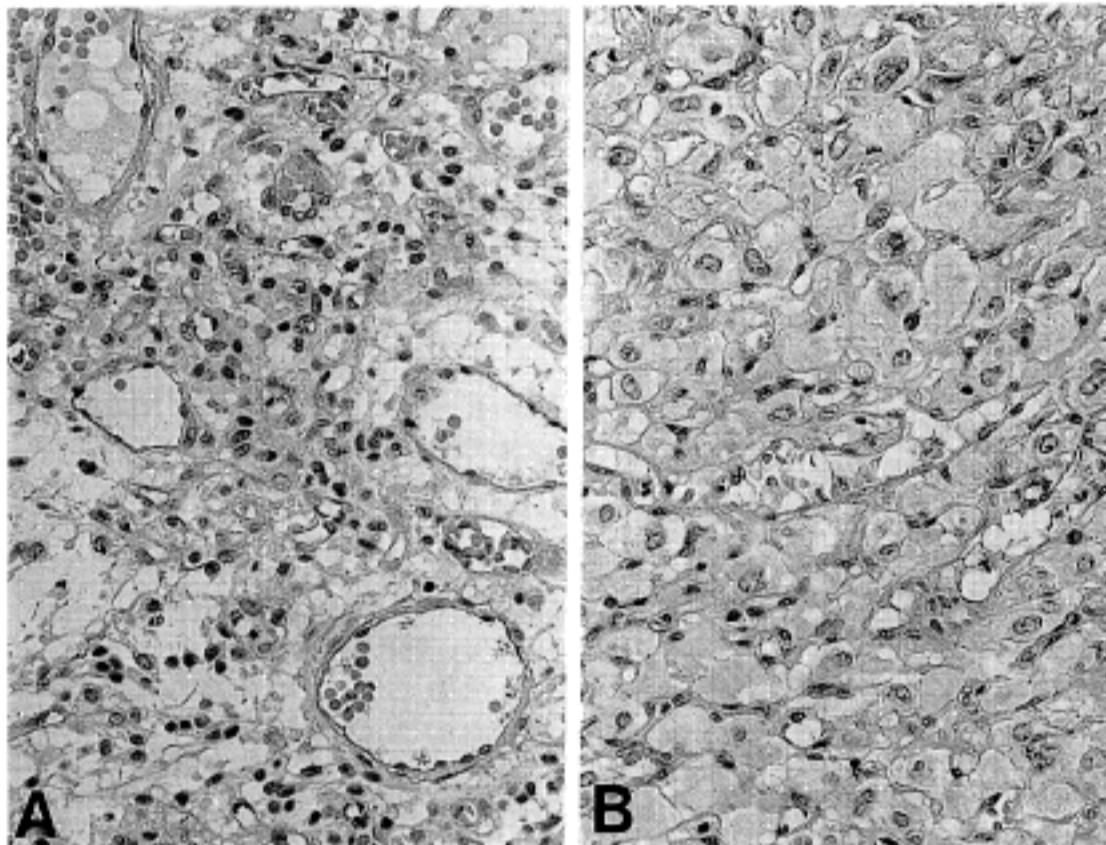


Fig. 2. Some cases show many vascular structure, vascular dilatation and compressed few stromal cells(A). In other cases, the collapsed blood vessels and many foamy cells are present(B).

Table 3. Results of immunohistochemical stain

No. of cases	GFAP pattern/amount	S-100 protein pattern/amount	$\alpha$ -1-antichymotrypsin pattern/amount	NSE pattern/amount
1	S/±	-	-	-
2	S/±	-	F/±	F/+++
3	S/+	-	F/+	F/+++
4	S/+	-	-	-
5	S/+	S/±	-	F/+
6	S/+	-	-	F/+++
7	S/+	S/±	F/+	F/+++
8	S/+	S/+	F/++	F/+++
9	F/+	F/+	F/+	F/++
10	S/+	S/+	-	F/+++

S means that immunohistochemical stain is positive in spindle cell and cellular process.  
 F means that immunohistochemical stain is positive in foam cell.

## 고찰

소뇌모세혈관성 혈관모세포종은 주로 소뇌에 생기는 양성종양으로 Von-Hippel-Lindau disease와의 연관성이 언급되는 종양이다. 새로운 면역 조직 화학 염색법의 발달과 함께 그 구성세포의 정확한 기원을 밝히고자 하는 노력이 계속되어 왔다. 기본적으로 광학현미경상 구분되는 세포는 내피세포, 외막세포, 포말성 간질세포등인데, 그 중 내피세포와 외막세포의 존재는 면역조직화학 염색 및 전자현미경 소견상으로 확인되었으나, 포말성 간질세포는 아직 그 세포의 정체가 분명치 않아 의견이 분분하다.

이 포말성 간질세포에 대한 전자현미경적 연구 결과를 보면, Jakobiec<sup>1</sup>, Glasberg와 Armbrustmacher<sup>2</sup>과 Grossniklaus<sup>3</sup>은 성상교세포에서 기원한다고 하였고, 다른 저자들은 내피세포에서 또는 외막세포에서 기원하거나 두가지세포 모두를 포함하는 혈관형성세포에서 기원한다고 하였다<sup>4-6</sup>. 우리나라에서는 명등<sup>7</sup>이 혈관형성세포가 섬유조직구 형태로 분화하여 간질세포가 되었다고 기술하였다.

면역조직화학적 연구에 의하면 초기에는 간질세포가 Factor-VIII related Antigen에 대해 양성이라고 생각하였고, 이제까지의 전자현미경소견과도 일치하는 결과이므로 혈관형성세포 기원에 대한 가능성을 주로 생각하였으나, Factor-VIII related Antigen에 음성인 간질세포가 따로 존재함을 알고 다른 방향으로 연구가 진행되었으며, GFAP가 개발되면서 종양내에 간질세포중에서 GFAP양성 세포가 관찰되면서 간질세포의 세포기원에 대한 연구가 아직까지 논란의 대상이 되어 있다.

Tanimura<sup>11</sup>은 GFAP와 S-100 protein에 양성인 세포가 일부 있는 것에 대해 간질세포가 여러 세포로 구성되어 있다고 설명하였고, Ironside<sup>10</sup>도 비슷한 설명을 하였으나, 최근에 Grossniklaus<sup>3</sup>는 면역조직화학염색과 전자현미경 소견을 종합하여 간질세포가 전적으로 성상교세포로 구성되어 있다고 보고하였다. Kamitani<sup>5</sup>은 GFAP가 종양 주변부에 약하게 양성이므로 성상교세포가 끼어든 걸로 보고 전자현미경 소견을 감안해서 외막세포나 평활근세포 기원이라고 하였다.

연자들의 경우도 GFAP에 양성인 세포가 있긴 하지만 소수의 방추형세포에 국한되어 있어 끼어든 세포로 생각하였다.

Frank<sup>8</sup>과 Hufnagel<sup>13</sup>은 여러가지 면역항체에 대하여 검색하였으며, GFAP, NSE, S-100 protein등에

약하게 양성소견을 보여 미분화성 간엽세포 기원일 것으로 생각하였다.

Holt<sup>9</sup>은 GFAP에 음성소견을 보이고,  $\alpha$ -1 antichymotrypsin과  $\alpha$ -1 antitrypsin에 양성이므로 성상교세포 기원보다는 조직구 기원으로 생각하였고, Nemes<sup>12</sup>도 GFAP에 음성이고  $\alpha$ -1 antichymotrypsin 과  $\alpha$ -1 antitrypsin에 일부 양성세포가 있어서 섬유조직구 기원으로 생각하였다.

연자들의 경우에도 GFAP에 약하게 양성이고 CD-68에 대해서는 음성이지만  $\alpha$ -1 antichymotrypsin에는 양성인 세포가 자주 관찰되어 조직구기원도 생각해볼 수 있다.

최근 Mizuno<sup>14</sup>은 정상 거미막세포의 면역조직화학 염색과 간질세포의 염색 결과가 유사하다고 보고하였다.

또 다른 연구는 NSE를 포함한 신경내분비 계통의 면역항체에 대한 검색으로 이들에 양성소견을 보이는 경우 신경외배엽성기원<sup>15</sup> 이거나, 신경내분비계통<sup>16</sup>이거나, 원시뱀티드성신경원기원<sup>17</sup>일 가능성등을 언급하고 있다. 그러나 일부 보고자는 이 NSE에 대한 양성소견을 오히려 성상교세포 기원을 지지하는 소견으로 해석하였다<sup>3,13</sup>.

연자들의 경우에도 GFAP와 S-100protein에는 약하게 양성소견을 보이는 세포가 소수 있으나 이는 끼어든 세포이거나 미약하게 흡수된 것으로 생각한다. NSE에는 대부분이 양성 반응을 보였지만, Synaptophysin에는 음성이므로 신경내분비 계통의 세포로부터 기원했을 것이라 생각하기 어렵다.

이상의 논문고찰과 연자의 결과를 종합해보면, ① GFAP와 S-100 protein에 양성인 세포들이 있는데 이를 어떻게 해석할 것인가? ②NSE에 강하게 양성인 세포가 다수 있는데 이에 대하여 의미를 둘 것인가? ③ 조직구 표지자들 중 일부에 대하여 양성인데 이에 대하여 의미를 둘 것인가? ④ 신경내분비 계통 면역항체에 미약하나마 양성인 것들에 의미를 둘 것인가? 하는 질문으로 요약할 수 있고, 이에 대해 각 보고자는 각자의 결과를 바탕으로 종합적인 여러가지 결론들을 맺어왔다. 연자의 결과를 바탕으로 보면 GFAP와 S-100 protein염색이 의미를 두기에는 미약하게 극소수에 양성되었고, NSE염색은 강하게 다수의 세포에 양성으로서 NSE염색 자체가 비특이적 염색이지만 무시해버리기 어렵다고 생각하며, 조직구 표지자중  $\alpha$ -1-antichymotrypsin염색은 의미있게 간질세포에 염색된 것으로 생각하였고, 다른 신경내분비 계통 면역항체로 Synaptophysin을 사용했으나 음성으로 의미를 둘 수 없겠으나 더 많은 면역항체에

대한 검색이 이루어지기 전에는 단정하기 어려울 것으로 생각된다. 결론적으로 연구자들은 두가지 가능성을 생각하는데 하나는 간질세포가 조직구성 세포로서 여러가지 다른 면역항체에 반응하는 물질을 흡수 내지는 식작용했을 가능성이고, 다른 하나는 조직구성 세포와 신경원성 세포가 따로 존재할 가능성이지만 신경원성 세포 존재에 대한 증거 자료가 미약하다.

## 결 론

소뇌모세혈관성 혈관모세포종의 간질세포의 세포 기원을 밝혀보고자 신촌세브란스에서 소뇌모세혈관성 혈관모세포종로 진단된 10예를 대상으로 면역조직화학 염색을 시행하였으며, 그 결과를 종합해보면 GFAP와 S-100 protein 염색은 주로 방추형세포나 세포돌기에 염색되며 그 강도가 미약하나, NSE염색은 대부분의 예에서 포말세포에 염색되고 6예에서는 특히 강하게 염색되었다.  $\alpha$ -1-antichymotrypsin에는 일부 예의 조직의 일부에서 양성반응을 보였으나 주로 포말세포에 양성 반응이었다. 이 결과를 종합하여 간질세포는 성장교세포 기원이라기 보다는 조직구나 신경원성 기원일 가능성이 더 높다고 생각되며, GFAP나 S-100 protein에 양성인 소견이 신경원성 기원을 지지할 수 있으나  $\alpha$ -1-antichymotrypsin에 양성임을 설명할 수 없어 배제하였고, 오히려 조직구의 식작용을 지지하는 소견으로 생각하여 조직구의 성질을 갖고 있는 세포로부터 기원한 것으로 생각한다.

## 참 고 문 헌

- Jakobiec FA, Font RL, Johnson FB. Angiomatosis retinae. An ultrastructural study and lipid analysis. *Cancer* 1976; 38: 2042-56.
- Glasberg MR, Armbrutmacher V. The astrocytic component of the cerebellar hemangioblastoma. *J Neuropathol Exp Neurol* 1978; 37: 617(abstr).
- Grossniklaus HE, Thomas JW, Vigneswaran N, Jarrett WH 3d. Retinal hemangioblastoma. A histologic, immunohistochemical, and ultrastructural evaluation. *Ophthalmology* 1992; 99: 140-5.
- Cancilla PA, Zimmerman HM. The fine structure of a cerebellar hemangioblastoma. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1965; 24: 621-8.
- Kamitani H, Masuzawa H, Sato J, Kanazawa I. Capillary hemangioblastoma. Histogenesis of stromal cells. *Acta Neuropathol(Berl)* 1987; 73: 370-8.
- Kawamura J, Garcia JH, Kamijyo Y. Cerebellar Hemangioblastoma. Histogenesis of stromal cells. *Cancer* 1973; 31: 1528-40.
- 명나혜, 박성혜, 권태정, 지제근. Histogenesis of stromal cells of hemangioblastoma. Ultrastructural study of 3 cases. *대한병리학회지* 1993; 27suppl: A95.
- Frank TS, Trojanowski JQ, Roberts SA, Brooks JJ. A detailed immunohistochemical analysis of cerebellar hemangioblastoma. an undifferentiated mesenchymal tumor. *Mod Pathol* 1989; 2: 638-51.
- Holt SC, Bruner JM, Ordonez NG. Capillary hemangioblastoma. An immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol* 1986; 86: 423-9.
- Ironside JW, Stephenson TJ, Royds JA, et al. Stromal cells in cerebellar hemangioblastomas. an immunocytochemical study. *Histopathology* 1988; 12: 29-40.
- Tanimura A, Nakamura Y, Hachisuka H, Tanimura Y, Fukumura A. Hemangioblastoma of central nervous system. Nature of the stromal cells as studied by the immunoperoxidase Technique. *Human pathol* 1984; 15: 866-9.
- Nemes Z. Fibrohistiocytic differentiation in capillary hemangioblastoma. *Human Pathol* 1992; 23: 805- 10.
- Hufnagel TJ, Kim JH, Truc LD, Manuelidis EE. Immunohistochemistry of capillary hemangioblastoma. Immunoperoxidase-Labeled antibody staining resolves the differential diagnosis with metastatic renal cell carcinoma, But dose not explain the histogenesis of the capillary hemangioblastoma. *Am J Surg Pathol* 1989; 13: 207-16.
- Mizuno J, Iwata K, Takei Y. Immunohistochemical study of hemangioblastoma with special reference to its cytogenesis. *Neurologica Medico-Chirurgica* 1993; 33: 420-4.
- Ismail SM, Jasani B, Cole G. Histogenesis of hemangioblastomas. an immunohistochemical and ultrastructural study in a case of Von Hippel-Lindau Syndrome. *J Clin Pathol* 1985; 38: 417-21.
- Becker I, Paulus AW, Roggendorf W. Histogenesis of stromal cells in cerebellar Hemangioblastomas. An immunohistochemical study. *Am J Pathol* 1989; 134: 271-5.
- Grant JW, Gallagher PJ, Hedinger C. Hemangioblastoma. An immunohistochemical study of ten cases. *Acta Neuropathologica* 1988; 76: 82-6.