

자궁내막 증식증과 선암종의 Estrogen 및 Progesterone 수용체 발현 양상과 PCNA를 이용한 세포증식능의 관련성에 대한 면역조직화학적 연구

인제대학교 의과대학 부산백병원 해부병리과 및 노원을지병원 해부병리과*

박 설 미 · 윤 혜 경 · 주 종 은*

An Immunohistochemical Study of the Relationships between Estrogen and Progesterone Receptors and Proliferating Cell Nuclear Antigen in Endometrial Hyperplasia and Adenocarcinoma

Seol Mi Park, M.D., Hye Kyoung Yoon, M.D. and Jong Eun Joo, M.D.*

Department of Pathology, Pusan Paik Hospital, College of Medicine, Inje University and Eulgi Medical Center, Seoul*

Estrogen and progesterone receptors exist in the epithelial and stromal cells of the endometrium. Proliferative disorders of the endometrium may be associated with autocrine and paracrine actions of estrogen and progesterone in epithelial and stromal cells. This study was performed to evaluate the differences estrogen and progesterone receptor(ER/PR) expression in the epithelial and stromal cells of endometrial hyperplasias and adenocarcinomas using immunohistochemical methods. Immunohistochemical analysis of proliferating cell nuclear antigen(PCNA) was done to evaluate a possible correlation between PCNA and hormone receptor expression.

Evaluation was based on samples from 31 simple hyperplasias, 30 complex hyperplasias, and 32 adenocarcinomas. The immunohistochemical expression of ER, PR and PCNA in epithelial and stromal cells were examined according to a scoring system based on the percentage of positive cells and the staining intensity.

The results were as follows;

- 1) The expression of ER and PR in epithelial cells showed a graded, significant decreases in simple hyperplasia, complex hyperplasia and endometrial carcinoma, in that order(ER: P=0.008, PR: P= 0.026).
- 2) PR expression in the stromal cells showed a significant decrease between hyperplasia and adenocarcinoma(P=0.003). The difference in ER expression was not significant.
- 3) In stromal cells, the decrease in PR expression was more prominent than the decrease

접 수 : 1995년 5월 8일, 게재승인 : 1995년 12월 4일

주 소 : 부산시 부산진구 개금동, 우편번호 633-165

부산백병원 해부병리과, 박설미

*제 46 차 1994년 추계학술대회에서 구연하였음.

in ER expression when complex hyperplasia was compared to simple hyperplasia.

4) The PCNA expression in simple and complex hyperplasia and adenocarcinoma was not higher than the expression of PCNA in normal proliferative endometrium. There was no significant difference in PCNA expression between simple and complex hyperplasia and adenocarcinoma(P=0.073).

5) A negative correlation between PCNA and ER/PR expression was not demonstrated in simple and complex hyperplasia, or in adenocarcinoma.

Endometrial hyperplasia and adenocarcinoma are probably related to a paracrine action of estrogen and progesterone in epithelial and stromal cells. A progressive loss of PR expression in stromal cells may induce abnormal proliferation of endometrium due to a disrupted hormonal balance. (Korean J Pathol 1996; 30: 15~22)

Key Words: Estrogen receptor(ER), Progesterone receptor(PR), Proliferating cell nuclear antigen(PCNA), Simple hyperplasia, Complex hyperplasia, Endometrial adenocarcinoma

서 론

자궁내막 선암종 및 그 전구 병변들의 발생은 점차 증가하는 추세이며, 자궁내막 선암종은 폐경기 여성에서 중요한 악성 종양이다¹. 자궁내막 선암종의 발생기전 및 자궁내막 증식증과의 연관성에 대해서는 아직 분명히 밝혀져 있지 않으나 자궁내막의 증식은 estradiol(E2)에 의하여 유발되고 progesterone에 의하여 억제된다고 알려져 있다². Estrogen 및 progesterone이 표적 조직에 작용하는데 estrogen 및 progesterone 수용체(이하 ER 및 PR로 줄임)가 필수적이며 이에 대한 많은 연구가 있었다³. 자궁내막에서 ER 및 PR은 상피세포 뿐만 아니라 간질세포에도 존재한다고 하며, 실험적 연구를 통하여 상피세포의 증식은 주위의 간질 조직에 의해 유발되고 유지됨이 보고되고 있으므로⁴ 상피세포와 간질세포 사이의 상호작용이 상피 기원성 종양의 발생과 성장에 기여하리라고 여겨지고 있다⁵.

자궁 내막의 증식성 질환인 자궁내막 선암종 및 자궁내막 증식증은 현재까지 에스트로젠의 과도한 자극이 병인으로 여겨지고 있음에 기초하여 단순성 자궁내막증식증(simple hyperplasia, 이하 SH로 줄임), 복합성 자궁내막 증식증(complex hyperplasia, 이하 CH로 줄임) 및 자궁내막 선암종(endometrial adenocarcinoma, 이하 CA로 줄임)에 있어서 ER 및 PR에 대한 면역조직화학염색을 실시하여 상피세포와 간질세포에서의 발현 빈도와 강도를 중심으로 발현을

을 조사하여 질환간, 수용체별, 부위별 차이를 살펴 보았다. 동시에 proliferating cell nuclear antigen(이하 PCNA로 줄임)에 대한 면역조직화학염색을 시행하여 SH, CH, CA에 있어서 세포증식능을 조사하였으며 ER 및 PR의 발현율과 비교하였다.

연구대상 및 연구방법

1. 연구대상

1987년 1월부터 1994년 4월까지 부산백병원 해부 병리과에 의뢰된 자궁내막 소파술 및 전자궁 절제술에서 얻어진 자궁내막조직중 자궁내막 증식증 및 자궁내막 선암종으로 진단된 93예를 대상으로 하였다. 자궁내막 증식증은 단순성 증식증 31예와 복합성 증식증 30예로 구성되어 있었고, 자궁내막 선암종은 32예로서 소파술에서 얻어진 17예와 전자궁절제술에서 얻어진 15예로 구성되어 있었다. 정상 대조군으로 증식기 9예(초기, 중기, 후기 각 3예)와 분비기 9예(초기, 중기, 후기 각 3예)를 본 해부병리과 기록에서 임의로 선택하였다.

2. 연구방법

연구대상 및 대조군의 H&E염색 조직표본을 광학 현미경으로 관찰하여 적절한 파라핀 블록을 선택한 다음 4 μm 두께로 박절하여 3장 이상의 절편을 얻어 organic silane 이 미리 처리된 슬라이드에 올린 다음 60°C의 열판에 24시간 두어 부착시켰다. Leong등⁶

에 의해 고안된 microwave 전처리과정을 거쳐 Anti-Estrogen Receptor(ER 1D5, DAKO), Anti-Progesterone Receptor(PR 1408, IMMUNOTECH) 및 Anti-Proliferating Cell Nuclear Antigen(PCNA PC10, DAKO)을 이용하여 Lin등⁷의 Avidin-Biotin-Peroxidase Complex 방법으로 면역조직화학염색을 시행하였다.

각 표본에 있어서 ER과 PR 및 PCNA 발현에 대한 평가는 상피 및 기질세포의 핵에 적갈색의 반응을 보이면 양성으로 판정하였으며, 광학현미경 40배 시야중 염색이 제대로 된 부위 10군데를 택하여 400배 배율에서 검경하여 양성율과 염색강도를 조사하였다. 양성을 나타내는 세포의 비 즉 양성율(이하 a로 칭함)을 평가하여 0~4점으로 다음과 같이 분류하였다. 즉, 0: 양성반응을 전혀 나타내지 않는 경우, 1: 1%에서 25%의 분포를 보이는 경우, 2: 26%에서 50%의 분포를 보이는 경우, 3: 51%에서 75%의 분포를 보이는 경우, 4: 76%에서 100%의 분포를 보이는 경우로 하였다. 염색 강도(이하 b로 칭함)는 0~3점으로 표시하였는데 0: 전혀 나타나지

않는 경우, 1: 약하지만 인지할 수 있는 경우, 2: 중등도로 염색되는 경우, 3: 강하게 염색되는 경우로 하였으며, 상피세포와 간질세포 각각 양성율과 염색강도를 평가한 점수를 더하여 발현율을 나타내는 지표(a+b, 0~7)로 사용하였다.

각 표본별 ER, PR 및 PCNA 발현율(a+b)을 PC-SAS Package를 이용한 분산분석(ANOVA test)으로 통계 처리하였고 유의수준은 0.05 이하로 하였다.

결 과

정상 대조군중 증식기에서는 ER 및 PR 발현율이 초기, 중기, 후기 사이에 차이가 뚜렷하지 않았는데 ER 발현율은 상피세포 5.1~5.9점, 간질세포 4.8~5.2점의 범위를 보였으며 PR 발현율은 상피세포 5.1~6.9점, 간질세포 4.5~6.6점의 범위였다. 초기 분비기의 경우 ER 발현율은 상피세포 3.4점, 간질세포 3.2점이었으며, PR 발현율은 상피세포 3.0점, 간질세포 3.3점으로 나타났다. 중기 분비기에서는 ER 발현율은 상피세포 2.7점, 간질세포 3.0점, PR 발현율은 상피세포 2.7점, 간질세포 3.0점, PR 발현율은

Table 1. Mean scores of ER, PR and PCNA expression in normal endometrium

Menstrual cycle	ER		PR		PCNA		
	Epithelium	Stroma	Epithelium	Stroma	Epithelium	Stroma	
Proliferative	Early	5.9	5.2	5.1	4.8	6.0	4.1
	Mid	5.8	4.8	5.8	4.5	4.8	5.0
	Late	5.1	5.0	6.9	6.6	4.5	5.0
Secretory	Early	3.4	3.2	3.0	3.3	3.5	3.8
	Mid	2.7	3.0	2.0	4.2	3.0	3.0
	Late	2.0	2.5	2.0	3.0	2.6	2.2

Table 2. Mean scores of ER, PR and PCNA expression in endometrial hyperplasia and adenocarcinoma

Dx	ER		PR		PCNA	
	Epithelium	Stroma	Epithelium	Stroma	Epithelium	Stroma
SH	3.9±1.7	4.0±0.8	4.3±2.1	4.0±1.4	4.7±2.0	3.9±1.2
CH	3.9±1.9	3.9±1.5	4.0±1.8	3.0±1.4	3.8±2.2	3.3±1.4
CA	1.8±1.7	2.3±0.9	2.8±1.9	2.6±1.1	5.2±1.3	3.0±1.3

SH: Simple hyperplasia
 CH: Complex hyperplasia
 CA: Endometrial adenocarcinoma

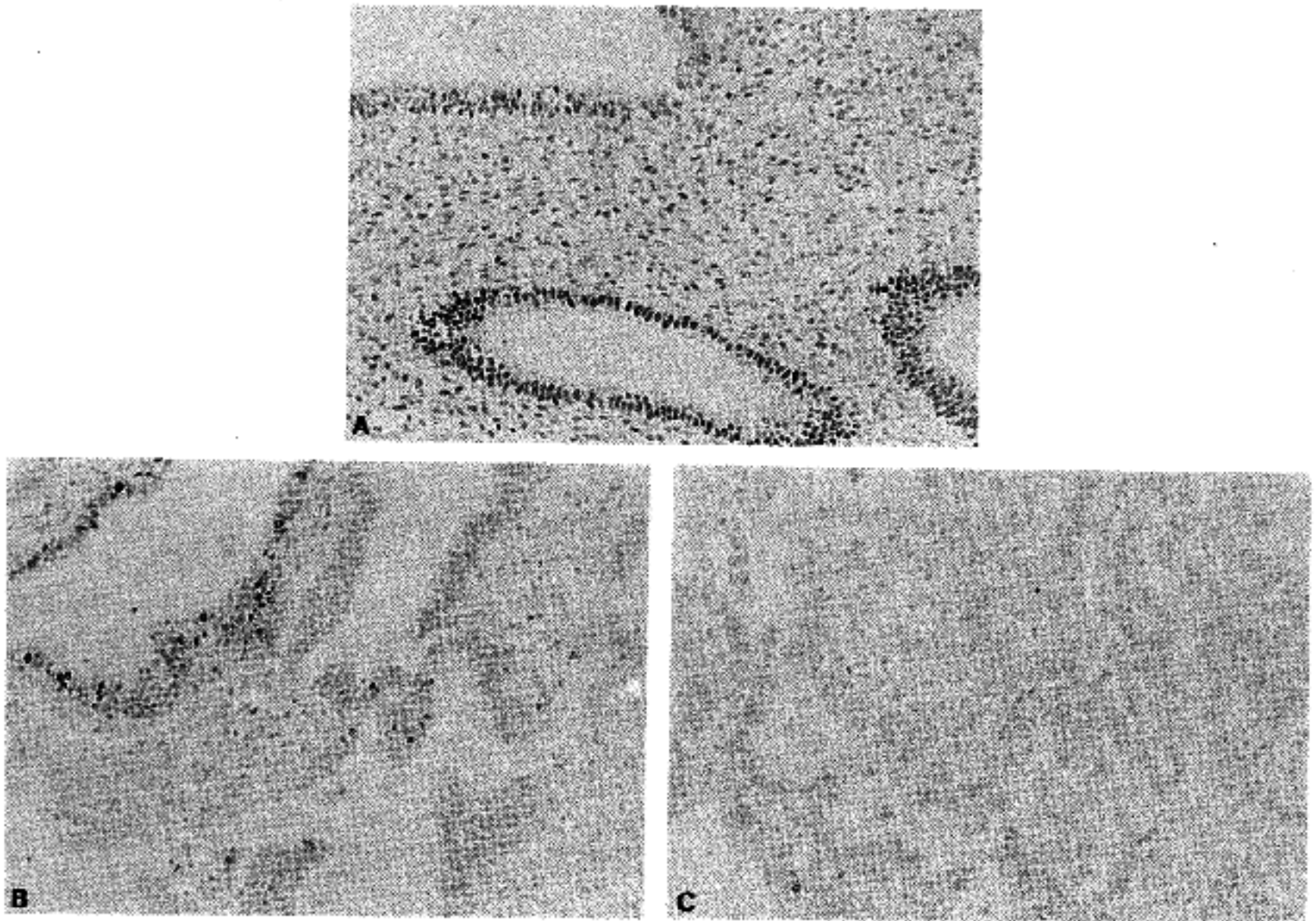


Fig. 1. Immunohistochemical stainings for progesterone receptor.
 A: Simple hyperplasia. Strong epithelial staining and moderate stromal staining.
 B: Complex hyperplasia. Moderate epithelial staining and weak stromal staining.
 C: Endometrial adenocarcinoma. Weak epithelial staining, but no stromal staining.

상피세포 2.0점, 간질세포 4.2점으로 나타났다. 후기 분비기에서는 ER 발현율은 상피세포 2.0점, 간질세포 2.5점이었으며, PR 발현율은 상피세포 2.0점, 간질세포 3.0점으로 나타났다(Table 1).

SH의 경우 ER과 PR 발현율의 평균을 살펴보면 상피세포는 ER 3.9 ± 1.7 , PR 4.3 ± 2.1 , 간질세포는 ER 4.0 ± 0.8 , PR 4.0 ± 1.4 였으며, CH의 경우 상피세포는 ER 3.9 ± 1.9 , PR 4.0 ± 1.8 , 간질세포는 ER 3.9 ± 1.5 , PR 3.0 ± 1.4 로서 정상 증식기와 비교하여 SH 및 CH의 경우 상피 및 간질 세포에서 ER 및 PR 발현율이 낮았으며, 정상 분비기보다는 상피와 간질 세포에서의 ER 및 PR 발현율이 높았다. SH와 CH에서 상피 및 간질세포에서의 ER 및 PR 발현율을 비교하면 CH의 경우 SH에 비해 간질세포에서의 PR 발현율의 감소가 인지되었다(Table 2, Fig. 1).

CA의 경우 상피세포는 ER 1.8 ± 1.7 , PR 2.8 ± 1.9 였으며, 간질세포는 ER 2.3 ± 0.9 , PR 2.6 ± 1.1 을 보여 SH 및 CH와 비교하여 상피세포의 ER 및 PR 발현율이 현저히 낮았으며 발현율 차이의 통계학적 유의성이 인정되었다(ER: $p=0.008$, PR: $p=0.026$). 간질세포의 ER 발현율은 SH 및 CH와 비교하여 유의성이 없었으나 PR 발현율은 세 질환간 유의한 차이를 보였다($p=0.003$)(Fig. 1). 정상 증식기 및 분비기와 비교하여 보면 중기 및 후기 분비기의 상피세포에서의 PR 발현율은 CA의 경우가 높았으나 상피 및 간질세포에서 ER 발현율 및 초기 분기의 상피세포와 모든 분비기 간질세포의 PR 발현율은 CA보다 높았다(Table 2).

PCNA의 발현율은 초기 증식기의 상피세포 6.0, 간질세포 4.1로 나타났고, 중기 및 후기 증식기에서

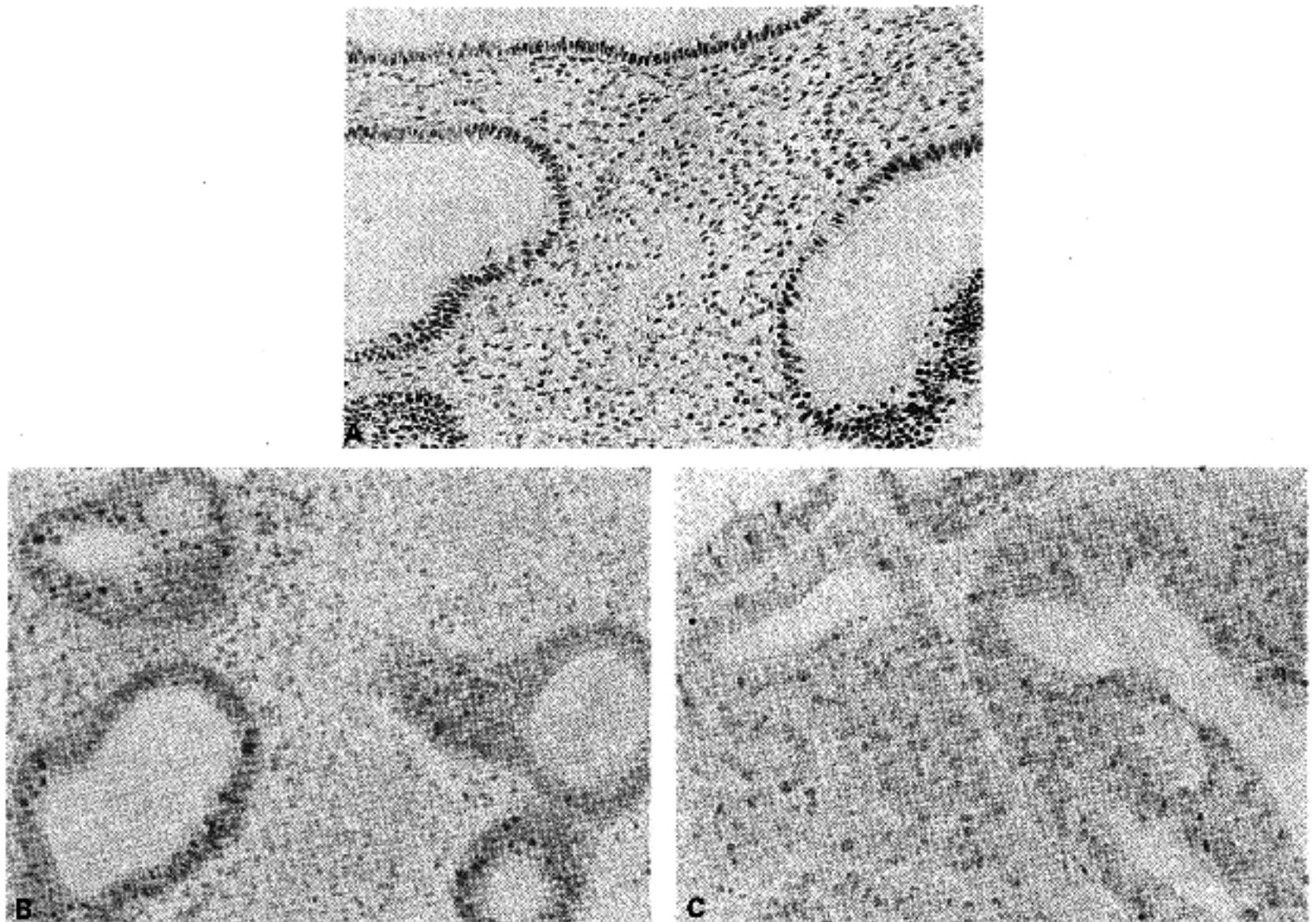


Fig. 2. Immunohistochemical stainings for proliferating cell nuclear antigen.
A: Simple hyperplasia. Strong epithelial staining and moderate stromal staining.
B: Complex hyperplasia. Moderate epithelial and stromal stainings.
C: Endometrial adenocarcinoma. Strong epithelial staining.

상피세포의 발현율은 4.8 및 4.5이었고, 간질세포에서는 모두 5.0이었다. 초기 및 중기 분비기의 상피 및 간질세포의 발현율은 3.0~3.8범위였다(Table 1). SH의 경우 PCNA에 대한 발현율은 상피세포 4.7 ± 2.0 , CH의 상피세포 3.8 ± 2.2 , CA의 상피세포 5.2 ± 1.3 으로서 초기 증식기에 비해 약간 낮았으나, 세 전환간 유의한 차이가 없었다($p=0.073$). 간질세포에서의 PCNA 발현율은 SH 및 CH의 경우 3.9 ± 1.2 , 3.3 ± 1.4 였으며, CA는 3.0 ± 1.3 으로 정상 증식기에 비해 낮았으나 정상 분비기와는 차이가 현저하지 않았으며, 상피세포와 마찬가지로 세 전환간 유의한 차이가 나타나지 않았다(Table 2, Fig. 2). 자궁내막의 SH 및 CH와 CA 간 PCNA 발현율과 ER, PR 발현율과의 연관성은 통계학적으로 유의한 차이가 없었다.

고 찰

자궁내막의 증식성 질환인 SH, CH와 CA의 경우 estrogen 과다가 병인으로 알려져 있으며⁸ 그 발생기전과 성장에 있어서 estrogen과 progesterone의 상호작용을 이해하기 위한 여러가지 연구가 시도되었고 표적세포에서 이 두 호르몬의 작용에 필수적인 호르몬 수용체에 대한 연구가 행하여졌다⁹⁻¹². 자궁내막에서 ER 및 PR은 상피세포 뿐만 아니라 간질세포의 핵에 주로 위치하며⁴ ER의 함유량은 정상 증식기에 있어 초기, 중기, 후기의 구분없이 상피와 간질세포에서 높게 나타나고 배란 이후 상피와 간질세포 양측에서 점차적으로 감소하나 간질세포에서 더 빨리 감소한다⁵. 이것은 Estradiol 의존성 자궁

내막 증식이 progesterone에 의해 억제됨을 의미한다고 볼 수 있다^{8,10}. 그러나 자궁내막의 기저층은 상피와 간질세포 모두 월경주기에 무관하게 ER에 대해 강한 발현을 보이며, 자궁근층은 자궁내막 상피 및 간질세포와 비슷하거나 조금 감소된 발현율을 나타낸다고 한다^{5,11}. 정상 폐경기 자궁내막에서는 ER은 상피와 간질세포에서 강하게 발현되나 PR은 상피세포에서 중등도로, 간질세포에서 약하게 발현된다¹³.

Cunha등⁴의 실험적 연구에서 상피세포의 증식은 주위 간질조직에 의해 유도되고 지속된다고 하였으며, 자궁내막 증식성 질환의 발생은 자궁내막의 상피세포와 간질세포 사이의 호르몬 상호 작용의 혼란을 반영하는 것으로 간질세포의 paracrine 작용이 상피세포 성장에 중요한 역할을 한다고 보고하였다^{4,14}. Snijders등¹³은 상피 및 간질세포 상호간의 작용은 estrogen 영향을 받는 증식기에 증가하며, 이러한 상피와 간질세포의 상호작용은 자궁내막의 증식성 병변을 일으키는데 어떤 역할을 하리라고 추정하였다. Bigsby등¹⁵은 스테로이드 호르몬에 의해 자극된 간질세포는 성장 조절 인자(growth regulating factor)를 생성하여 상피세포의 분화와 기능을 조절한다고 하였으며, Okulicz등¹⁰은 progesterone치와 상피세포의 증식이 연관이 있다고 제시하였다.

Thornton등¹⁸은 정상 자궁내막조직과 자궁내막 증식성 질환에서 ER 발현의 다양성을 상피세포 및 간질세포에서 보여준다고 하였으며, 특히 상피세포의 ER발현 양상이 그 병변의 생물학적 성상과 관련성이 있을 가능성을 제시하였다. 또한 복합성 자궁내막 증식증과 자궁내막 암종에서 간질내 ER 및 PR의 감소는 평행하지 않으며, 이는 간질세포와 상피세포간 호르몬 상호작용의 불균형이 초래됨으로서 자궁내막의 증식성 병변이 악성 종양으로 전환될 것으로 추측하였다. 자궁내막 선암종에서 상피 및 간질세포내 ER 및 PR의 분포는 균일하지 않으나 암종은 증식증에 비해 PR의 현저한 감소가 있다고 하였으며, 이는 증식증이 암종에 비해 progesterone에 더 민감하게 반응하는 것을 시사한다고 하였다^{12,17,18}. Snijders등¹³에 의하면 비정형성을 동반한 자궁내막 증식증에서 간질세포내 PR함유량은 비정형성을 동반하지 않은 증식증 병변보다 유의하게 감소하였으며, 이로서 자궁내막 증식성 질환에 있어서 ER 및 PR 함유량의 점차적인 소실이 있는 경우 악성 전환의 가능성이 높으리라고 추측하였으나 상피세포내 ER 및 PR과 간질세포내 ER함유량은 유의한 차이가 없었다고 하였다. 또한 Bergeron등¹²은 간질세포의 PR이 증식증과 암종에 관계없이 높다고 하였다.

본 연구에서 SH, CH 및 CA에 대한 발현율을 비교해 보면 상피 및 간질세포에서 CH 및 AH 사이에는 차이를 보이지 않았지만 CA에서는 자궁내막 증식증에 비해 유의성 있는 차이를 보였다. PR 발현율 역시 CA의 경우 SH, CH와 비교하여 상피 및 간질세포 모두 유의적인 감소를 보였다. SH와 CH를 비교하여 볼 때 CH의 경우 간질세포에서의 PR발현율이 SH에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었으며 간질세포에서의 PR 발현율 감소가 ER 발현율 감소보다 더 현저하였다. 이것은 Snijder등¹³의 자궁내막 증식성 질환에서 상피세포의 비정형성이 동반될수록 점차적으로 스테로이드 수용체의 함유량이 감소한다는 보고와 부합되며, CH와 CA의 경우 상피세포와 비교하여 간질세포의 PR 발현율이 ER 발현율보다 뚜렷한 감소를 보이는 것은 간질 세포에서의 불균등한 PR 발현율의 감소와 자궁내막 증식성 질환과 연관이 있다는 이전의 보고들과 일치하였다.

PCNA는 세포 주기와 연관된 30KD의 핵단백으로서 DNA 합성에 관여하며 세포증식의 표지자로서 종양에 있어서 비정상적인 과다한 발현을 보인다¹⁹. 세포의 증식능을 알기 위해 다양한 방법이 이용되고 있으나 PCNA가 파라핀 포매조직에서 면역조직화학염색법으로 쉽게 인지되므로 많이 이용되고 있다¹⁹⁻²⁴. PCNA에 대한 단클론성 항체인 PC10은 핵에 국한되어 미만성 또는 과립상으로 나타나며 드물게 세포질내에도 염색된다²⁰. 종양에서의 PCNA 발현과 세포증식능 사이에 연관이 있으리라는 추측은 PCNA 반감기가 증가된 것으로 설명하고 있으며 또한 종양에서 PCNA 발현의 증가는 성장인자의 autocrine 분비에 의해 일어난다고 하며 정상 자궁내막에 있어서 PCNA는 증식기 상피세포와 간질세포에서 주로 발현되고 후기 분비기에는 잘 나타나지 않는다고 보고되어 있다¹⁹. Punnonen등¹⁹의 보고에 의하면 스테로이드 수용체의 결여와 감소는 초기 자궁내막의 발암 과정에 있어서 중요하며 세포증식능의 변화나 DNA 비배수체는 종양 발달의 후기에 나타난다고 하였다. 또한 세포증식능은 악성 종양의 분화도와 연관이 있다고 하며 특히 분화가 좋은 악성 종양이나 양성 및 악성 종양의 경계가 되는 종양에 있어서 PCNA 발현율의 증가는 예후가 비교적 나쁨을 의미하지만, PCNA 발현이 낮은 경우에도 예후가 좋다고 단정할 수는 없으며 단지 악성 종양의 예후에 있어서 부가적인 자료를 얻는데 유용하다고 하였다^{22,23}.

본 연구에서도 PCNA의 발현율은 증식기가 분비기와 비교하여 훨씬 높았으며 SH, CH 및 CA의 경

우 정상 초기 증식기 자궁내막보다 오히려 낮은 발현을 보였으며, 이는 Hareyama등²⁴의 보고에서 자궁내막 선암종의 증식능이 정상 증식기의 증식능보다 높지 않다는 결과와 일치하였다. 그러나 SH, CH, CA간 PCNA 발현율은 유의성 있는 차이를 보여주지 않으므로 자궁내막 증식성 질환의 감별에 도움이 되지 못함을 알 수 있었다. 일반적으로 PCNA가 강하게 발현될수록 예후가 좋지 않은 점과 유방암의 경우 ER, PR 양성인 경우 예후가 좋다고 알려진 점에 기인하여 자궁내막 증식증과 자궁내막 선암종에 있어서 상피와 기질조직에서 PCNA 및 ER, PR 발현율의 상호 연관성을 살펴보았으나 의미있는 상관성은 없었다.

결 론

1987년 1월부터 1994년 4월까지 부산백병원 해부병리과에 의뢰된 자궁내막조직 중 단순성 자궁내막 증식증 31예, 복합성 자궁내막 증식증 30예, 자궁내막 선암종 32예와 정상대조군으로 증식기 9예(전기, 중기, 후기 각 3예) 및 분비기 9예(전기, 중기, 후기 각 3예)에 대해 ER, PR 및 PCNA에 대한 면역조직화학염색을 실시하여 아래의 결과를 얻었다.

1) 자궁내막 선암종의 경우 단순성 및 복합성 자궁내막 증식증에 비하여 상피세포내 ER 및 PR 발현율이 유의하게 감소하였다(ER: $P=0.008$, PR: $P=0.026$).

2) 간질세포의 PR 발현율은 자궁내막 증식증 및 선암종간 유의한 차이를 보였으나($P=0.003$), ER 발현율의 차이는 유의성이 없었다.

3) 복합성 자궁내막 증식증의 경우 단순성 자궁내막 증식증에 비하여 간질세포내 PR 발현율을 감소가 ER 발현율의 감소보다 현저하였다.

4) PCNA는 초기 증식기 자궁내막에서의 발현율에 비해 자궁내막 증식증 및 선암종에서 오히려 낮았으며 단순성 및 복합성 자궁내막 증식증과 자궁내막 선암종간 PCNA 발현율 차이의 통계학적 유의성은 없었다($P=0.073$).

5) 자궁내막 증식증 및 선암종에 있어서 PCNA와 ER, PR 발현율 사이의 상호 연관성은 나타나지 않았다.

이상의 결과로 자궁내막의 증식성 질환에서 스테로이드 호르몬에 대한 간질세포의 paracrine 작용, 즉 ER에 비해 상대적으로 현저한 PR의 감소로 인해 호르몬 영향의 불균형이 초래됨으로서 상피세포의 비정상적인 증식이 유발되리라고 추정되어지며, PCNA는

단순성 및 복합성 자궁내막 증식증과 자궁내막 선암종간 차이를 보이지 않아 상기 질환의 감별에 의의가 없음을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Silverberg E, Lubera J. Cancer statistics. *Ca J Clin* 1987; 37: 2-19.
2. Ferenczy A, Bertrand G, Gelfand MM. Proliferation kinetics of human endometrium during the normal menstrual cycle. *Am J Obstet Gynecol* 1979; 133: 859-67.
3. Shyamala G, Ferenczy A. The effect of sodium molybdate on the cytoplasmic estrogen and progesterone receptors in human endometrial tissues. *Diagn Gynecol Obstet* 1981; 3: 277-82.
4. Cunha GR, Chung LWK, Shannon JM, Taguchi O, Fujii N. Hormone-induced morphogenesis and growth: role of mesenchymal-epithelial interactions. *Recent Prog Hormone Res* 1983; 39: 559-98.
5. Bergeron C, Ferenczy A, Shyamala G: Distribution of estrogen receptors in various cell types of normal, hyperplastic, and neoplastic human endometrial tissues. *Lab Invest* 1988; 58: 338-45.
6. Leong ASY, Milios J, Duncis CG: Antigen preservation in microwave-irradiated tissues: A comparison with formaldehyde fixation. *J Pathol* 1988; 156: 275-82.
7. Lin CW, Fujime M, Kirley SD, Prout GR: Visualization of urothelial blood group isoantigens A and B using direct biotinlabeled antibodies and avidin-biotin-peroxidase complex. *J Histochem Cytochem* 1985; 32: 1339-43.
8. Kurman RJ, Kaminski PF, Norris HJ: The behavior of endometrial hyperplasia a long-term study of "Untreated" hyperplasia in 170 patients. *Cancer* 1985; 56: 403-12.
9. Nyholm HC, Nielsen AL, Lyndrup J, Thorpe SM: Progesterone receptor content in endometrial carcinoma correlates with serum levels of free estradiol. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1993; 72: 565-9.
10. Okulicz WC, Balsamo M, Tast J: Progesterone regulation of endometrial estrogen receptor and cell proliferation during the late proliferative and secretory phase in artificial menstrual cycles in the rhesus monkey. *Bio Reprod* 1993; 49: 24-32.
11. Huang SJ, Cheng L, Lewin KJ, Fu YS: Immunohistochemical estrogen receptor assessment in hyperplastic, neoplastic, and physiologic endometria. *Path*

- Res Pract 1991; 187: 487-95.
12. Bergeron C, Ferenczy A, Toft DO, Shyamala G: Immunocytochemical study of progesteron receptors in hyperplastic and neoplastic endometrial tissues. *Cancer Res* 1988; 48: 6132-6.
 13. Snijders MP, Goeij AF, Koudstaal J, Thunnissen EB, Haan JD, Bosman FT: Oestrogen and progesterone receptor immunocytochemistry in human hyperplastic and neoplastic endometrium. *Pathol* 1992; 166: 171-7.
 14. Cooke PS, Uchima F-DA, Fujii DK, Bern HA, Cunha GR. Restoration of normal morphology and estrogen responsiveness in cultured vaginal and uterine epithelia transplanted with stroma. *Proc Natl Acad Sci* 1986; 83: 2109-13.
 15. Bigsby RM, Cunha GR: Estrogen stimulation of deoxyribonucleic acid synthesis in uterine epithelial cells which lack estrogen receptors. *Endocrinology* 1986; 119: 390-6.
 16. Thornton JG, Wells M: Oestrogen receptor in glands and stroma of normal and neoplastic human endometrium: A combined biochemical, immunohistochemical, and morphometric study. *J Clin Pathol* 1987; 40: 1437-42.
 17. Creasman WT, Soper JT, McCarty KS, McCarty KS, Hinshaw W, Pearson DLC: Influence of cytoplasmic steroid receptor content on prognosis of early stage endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151: 922-32.
 18. Palmer DC, Muir IM, Alexander AI, Cauchi M, Bennett RC, Quinn MA: The prognostic importance of steroid receptors in endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol* 1988; 72: 388-93.
 19. Hall PA, Levison DA, Woods AL, et al. Proliferating cell nuclear antigen(PCNA) immunolocalization in paraffin sections: An index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. *Pathol* 1990; 162: 285-94.
 20. Yu CC, Wilkinson N, Brito MJ, Buckley CH, Fox H, Levison DA: Patterns of immunohistochemical staining for proliferating cell nuclear antigen and p53 in benign and neoplastic human endometrium. *Histopathology* 1993; 23: 367-71.
 21. Punnonen R, Mattila J, Kuoppala T, Koivula T: DNA ploidy, cell proliferation and steroid hormone receptors in endometrial hyperplasia and early adenocarcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 1993; 119: 426-9.
 22. Kokeguchi S, Hayase R, Sekiba K: Proliferative activity in normal endometrium and endometrial carcinoma measured by immunohistochemistry using Ki-67 and anti-DNA polymerase α antibody, and by flow cytometry. *Acta Med Okayama* 1992; 46: 113-21.
 23. Schofield JB, Mansi J, Camplejohn RS, Lane DP, Fisher C: Proliferating cell nuclear antigen and S phase fraction in endometrial stromal sarcoma. *J Clin Pathol* 1992; 45: 664-7.
 24. Hareyama H, Ohkohchi T, Takeda N: Proliferative activity of endometrial cells and endometrial cancer cells using the monoclonal antibody PCNA. *Acta Obst Gynaec Jpn* 1992; 44: 609-10.
-