

## 신세포암종에 있어서 핵등급과 AgNORs 수 및 PCNA 표지지수 사이의 상관관계

부산대학교 의과대학 병리학교실

이혜진 · 한영임 · 서강석 · 이선경

### Correlation between Nuclear Grades and the Numbers of AgNORs and PCNA Labeling Indices in Renal Cell Carcinoma

Hye Jin Lee, M.D., Young Im Han, M.D.  
Kang Suek Suh, M.D. and Sun Kyung Lee, M.D.

Department of Pathology, Pusan National University, College of Medicine

The author examined the number of AgNORs and PCNA labeling indices by histochemical and immunohistochemical studies in 20 cases of renal cell carcinoma, composed of 5 cases according to the nuclear grades.

The results obtained are summarized as follows;

1) Mean number of AgNORs according to the nuclear grades of renal cell carcinoma were  $1.38 \pm 0.40$  (mean  $\pm$  standard deviation) for Grade I,  $2.53 \pm 0.33$  for Grade II,  $5.43 \pm 0.66$  for Grade III, and  $7.88 \pm 0.72$  for Grade IV. The mean numbers of AgNORs according to the nuclear grades were significantly increased ( $p=0.0005$ ).

2) PCNA labeling indices (positive nuclear ratio) according to the nuclear grades of renal cell carcinoma were  $5.90 \pm 2.36$  for Grade I,  $19.30 \pm 6.71$  for Grade II,  $45.73 \pm 8.62$  for Grade III, and  $61.83 \pm 6.34$  for Grade IV. Also, the PCNA labeling indices according to the nuclear grades were significantly increased ( $p=0.0008$ ).

3) The mean numbers of AgNORs directly correlated with the PCNA labeling indices ( $r=0.9861$ ,  $p<0.001$ ).

On the basis of the above results, it was considered that the numbers of AgNORs and PCNA labeling indices as markers of proliferative activity of tumor cells correlate well with the nuclear grades of renal cell carcinoma. (*Korean J Pathol* 1996; 30: 132~139)

**Key Words:** Nuclear grade, AgNORs, PCNA, Renal cell carcinoma

## 서 론

신세포암종은 성인의 신장에 발생하는 가장 흔한 원발성 암종<sup>1</sup>으로 이 암종의 성질과 그 예후를 나타낼 수 있는 임상적 또는 형태학적 표지자를 찾고자 하는 많은 연구가 있었으나 아직 하나의 뚜렷한 표지자는 없는 실정이다<sup>2</sup>. 최근까지의 신세포암종 연구를 통해 그 예후와 연관된다고 알려진 의의있는 표지자들은 병리학적 병기, 핵등급 그리고 조직학적 양상외에도 종양의 크기, 세포의 종류, 림프관 전이 등이 알려져 있다<sup>3-6</sup>. 병리학적 병기의 분류법으로 가장 많이 쓰이는 Robson의 분류법<sup>3,5</sup>은 신장맥 침윤이 예후와 별로 관계가 없다는 보고에 의해 문제가 제기되고 있다. 따라서, 그 다음으로 예후를 예측하는 표지자로 많이 쓰이는 것이 핵등급인데 이는 과거 여러 연구자들에 의해 시도되었으나<sup>7,8</sup> 재현성이 낮아 잘 쓰이지 않다가 Fuhrman등<sup>3</sup>이 제시한 핵등급은 재현성이 좋을 뿐 아니라 간단하고 또한 최근 여러 연구자들에 의해 이 분류법이 예후와 연관이 있는 것으로 보고되고 있다<sup>3,9</sup>.

종양세포의 증식능을 객관적으로 측정하는 방법은 여러 가지가 있다. Thymidine labeling index<sup>10</sup>와 bromodeoxyuridine(BrdU)표식법<sup>11,12</sup>, 그리고 유세포 측정기를 이용한 DNA ploidy<sup>13</sup>가 있으나, 이는 여러가지 기자재가 필요하고 복잡한 과정과 비용이 많이 드는 단점이 있다. 최근에는 핵소체 조성부(nucleolar organizer regions, NORs)에 관련된 단백질의 은기호성(argyrophilia)을 이용하여 실시하는 은염색법과 Ki-67항체, PCNA(proliferating cell nuclear antigen)를 이용한 면역조직화학 염색법이 많이 이용되고 있는데, 이들은 비교적 간단하면서도 많은 정보를 얻을 수 있는 장점이 있다.

NORs는 5쌍의 단부착사형 염색체(acrocentric chromosome), 즉 13, 14, 15, 21 및 22번 염색체의 단완에 존재하는 ribosomal DNA(rDNA) 고리로서, RNA polymerase I에 의해 rRNA를 전사(transcription)하여 핵소체에서 리보솜 구성 단백질 및 리보솜 전구체를 생산한다. 따라서 은염색에 의해 핵에 나타나는 AgNORs는 rRNA에 의한 전사능력을 간접적으로 나타내는 것이며 세포의 증식정도를 반영한다<sup>14-16</sup>.

PCNA 혹은 cyclin은 세포주기와 연관된 핵단백질로서 분자량이 36Kd이고 DNA중합효소(DNA polymerase) delta에 관계하는 보조기능을 가지고 있어서 DNA합성과 세포증식의 조절에 필수적인 보조물질이다<sup>17</sup>.

따라서, 본 연구는 신세포암종의 핵등급과 연관된 AgNORs 수 및 PCNA 표지 지수를 이용하여 종양세포의 증식능을 측정하고 이의 상관관계를 정립할 목적으로 시도되었다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

본 연구에 이용한 재료는 신적출술에 의해 진단된 원발성 신세포암종조직의 각 등급별 5예씩으로 총 20예를 선택하였다. 이들은 10% 중성 포르말린에 고정하고 파라핀에 포매하여 보관된 것들이다. 연령 분포는 34세에서 68세로 평균 51.1세였으며 이 중 남자가 12명으로 60%를 차지하였다. 종양의 크기는 2.7 cm에서 12 cm으로 다양하였고 신세포암종의 clear cell type은 대부분이 핵등급 I 또는 II로 낮았다. 핵등급 III의 1예, IV의 2예에서 폐의 전이 소견이 관찰되었다(Table 1).

### 2. 방 법

1) 병리조직학적 핵등급: 핵등급은 Fuhrman등<sup>3</sup>의 기준에 따라 네 등급으로 분류하였다. I등급은 10  $\mu$ m 정도로 균일하고 둥글며 핵소체가 없는 종양세포로 구성된 경우, II등급은 핵이 15  $\mu$ m 정도로 크고 핵막이 약간 불규칙하며 광학현미경 400배의 시야에서 핵소체가 보이는 종양세포로 구성된 경우, III등급은 핵이 20  $\mu$ m 정도로 커지고 명백한 핵막의 불규칙성과 100배 시야에서도 핵소체가 보이는 종양세포로 구성된 경우, 그리고 IV등급은 III등급의 핵보다 기괴하고 다양한 크기와 과염색성의 핵을 가지거나 가끔 방추형의 육종양 세포도 관찰되는 경우이다. 이러한 핵등급은 등급영역의 비율에 관계없이 가장 높은 등급에 의해 결정되었다.

2) AgNORs의 염색방법 및 검색: Crocker와 Parmjit가 개량한 일단계도은법을 이용하였다. 10% 중성 포르말린 고정과 파라핀 포매를 거친 조직을 4  $\mu$ m 두께의 절편으로 만들어 30분간 50~56°C의 항온기내에서 가온시킨후 xylene으로 탈파라핀시키고 100%, 95% 및 70% 알코올순으로 함수 시킨후 증류수로 수세하였다. 증류수로 함수시킨후 1% formic acid용액에 gelatin을 2%농도로 녹인 용액과 50% silver nitrate 용액을 1:2의 비율로 혼합하여 만든 은고질 용액을 슬라이드에 붓고 암실에서 40분간 반응시켰다. 증류수로 깨끗이 세척하고 알코올로 탈수시켜 완전히 건조시킨 후 balsam으로 봉입하였다. 이 염색표본들을 광학현미경 1000배의 유침렌즈하에서

Table 1. Clinical data in renal cell carcinoma of study group

No. of cases	Nuclear grade	Age(yrs)	Sex	Tumor size(cm)	Cell type	Stage(by Robson)
1	I	47	M	3.5	clear	I
2	I	52	F	4.5	clear	I
3	I	46	M	2.8	clear	I
4	I	34	M	3.0	clear	I
5	I	49	F	2.7	clear	II
6	II	48	F	9.2	clear	I
7	II	48	M	2.7	mixed	I
8	II	46	F	12	clear	II
9	II	53	F	5.5	mixed	II
10	II	56	M	6.7	granular	I
11	III	53	M	6.3	granular	II
12	III	43	M	7.8	clear	II
13	III	53	M	5.8	granular	III
14	III	47	F	8.5	granular	IV
15	III	54	M	11	mixed	III
16	IV	59	M	7.5	mixed	II
17	IV	57	M	8.0	sarcomatoid	IV
18	IV	59	F	9.6	granular	III
19	IV	68	M	10.0	sarcomatoid	IV
20	IV	51	F	7.8	sarcomatoid	II

임의로 200개의 종양세포를 선정하여 각 세포의 핵 내에 흑갈색으로 염색된 AgNORs의 수를 세어 각 핵당 AgNORs의 평균수로 표시하였다.

3) PCNA를 위한 면역조직화학염색 및 검색: 포르말린 고정과 파라핀에 포매를 거친 조직을 4  $\mu$ m의 두께의 절편으로 만들어 단클론성 일차항체로는 Dako사의 PC-10을 사용하였고 labelled streptavidin biotin(LSAB)방법으로 시행하였다. Xylene과 알코올로 탈파라핀하여, 함수시킨 슬라이드를 0.3% 과산화수소로 5분간 반응시켜 내인성 과산화수소를 억제시킨 다음, Tris 완충액(0.05M, pH 7.6)으로 10분간 수세하고 정상 면양 혈청을 가하여 20분간 반응시켰다. 정상 혈청을 제거한 다음 희석한 일차항체(1:100희석)를 첨가하여 4°C의 항온기에 하룻밤 두었다. 다음날 Tris 완충액으로 수세하고 biotin과 결합한 항 생쥐 면양혈청인 이차항체를 20분간 반응시켰다. 수세후 avidin과 결합한 과산화효소 복합제를 가하여 20분간 반응시킨후 diaminobenzidine(1 mg/ml)으로 양성세포가 갈색으로 염색될때 까지 발색시킨 다음 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하고 balsam으로 봉입하였다. 이 염색표본들을 광학현미경 400

배의 렌즈하에서 임의로 300개의 종양세포를 선정하여 종양세포중 PCNA염색에 양성반응을 보인 종양세포수의 백분율을 구하여 표지지수로 하였다.

### 3. 통계적 분석

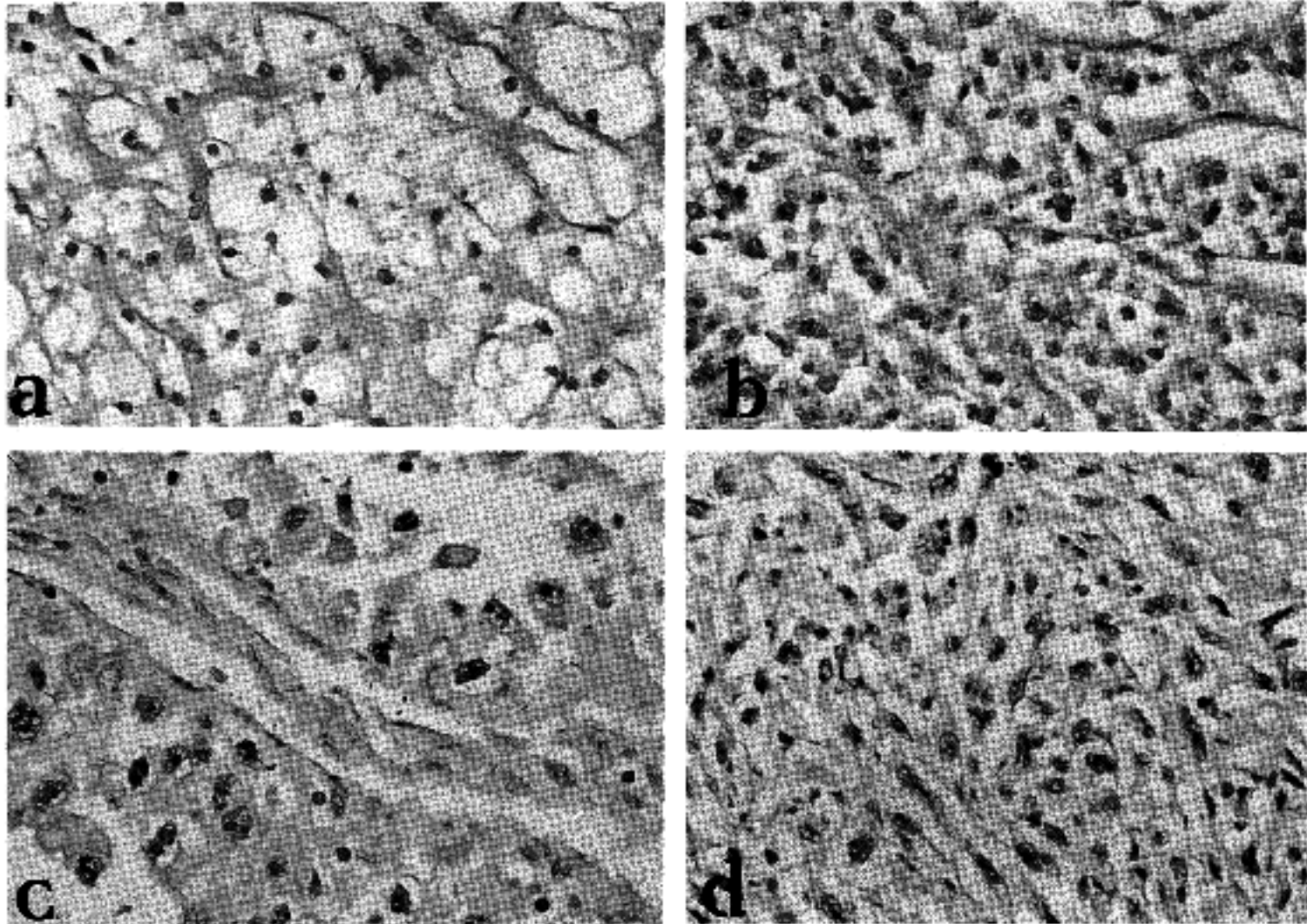
관찰결과 얻어진 성적들은 Kruskal-Wallis oneway ANOVA로 통계학적 의의를 검토하였고 AgNORs 수와 PCNA 표지지수와 상관계수는 Pearson 상관계수(correlation coefficient)를 이용하였다.

## 결 과

### 1. AgNORs 및 PCNA 염색소견

AgNORs 염색표본에서 신세포암종의 핵들은 분명히 구분되는 흑갈색의 점들을 가지고 있었으며 이러한 점들은 주로 핵내에 고루 퍼져 있었으나 어떤 핵들에서는 핵막 가까이에 위치하고 있었다. 등급이 높은 종양세포일수록 흑갈색점들이 응집하여 불규칙한 덩어리를 형성하는 경우가 많았다(Fig. 1).

PCNA 면역반응성은 신세포암종의 핵에 국한되어 갈색의 과립상 또는 미만성으로 염색되었다. 등급이



**Fig. 1.** AgNORs stains a; Nuclear grade I of RCC shows 1 or 2 AgNORs dots per nucleus. b; Nuclear grade II of RCC shows 1 to 4 AgNORs dots per nucleus. c; Nuclear grade III of RCC shows many AgNORs dots per nucleus. d; Nuclear grade IV of RCC shows more numerous AgNORs dots per nucleus than grade III. RCC; Renal cell carcinoma.

**Table 2.** Numbers of AgNORs according to the nuclear grades of renal cell carcinoma

Case	Grade I	Grade II	Grade III	Grade IV
1	1.30	2.38	5.28	7.31
2	1.19	2.21	6.37	7.29
3	1.09	2.39	5.38	9.05
4	1.24	3.05	5.57	8.01
5	2.09	2.63	4.53	7.75
Mean	1.38 ± 0.40	2.53 ± 0.33	5.43 ± 0.66	7.88 ± 0.72

±S.D.

$$\chi^2=17.587, p=0.0005$$

**Table 3.** PCNA labeling indices according to the nuclear grades of renal cell carcinoma

Case	Grade I	Grade II	Grade III	Grade IV
1	6.73	22.39	44.88	56.23
2	3.61	13.35	60.02	56.43
3	6.92	16.45	42.09	70.95
4	3.36	29.59	44.74	65.54
5	8.89	14.72	36.91	60.01
Mean	5.90 ± 2.36	19.30 ± 6.71	45.73 ± 8.62	61.83 ± 6.34

±S.D.

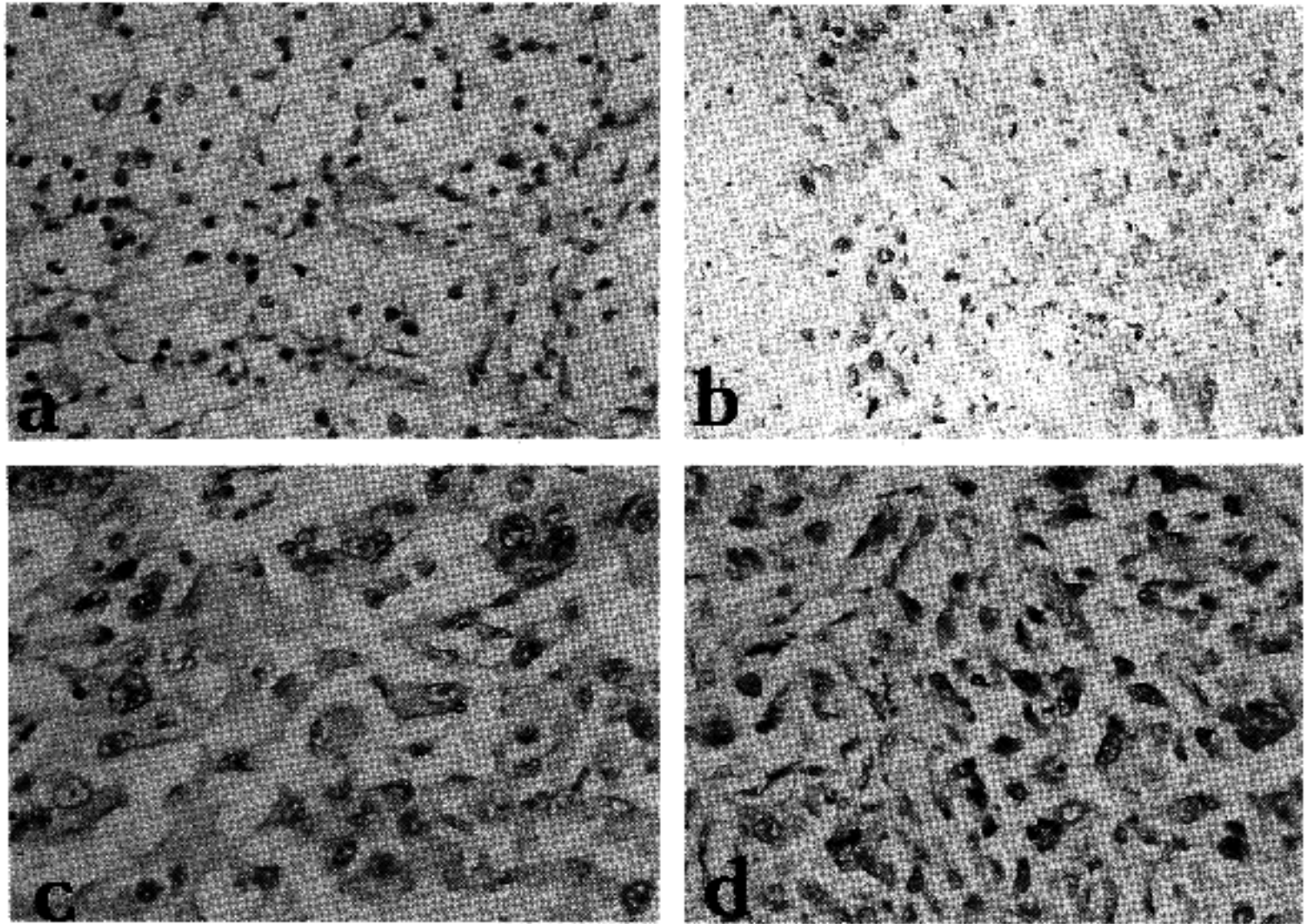
$$\chi^2=16.654, p=0.0008$$

높은 종양세포일수록 PCNA 양성의 세포가 많았고 염색의 강도도 강하게 염색되는 경향을 보였다(Fig. 2).

## 2. 핵등급에 따른 AgNORs 수

신세포암종의 핵등급에 따른 핵당 AgNORs 평균 수는 종양세포의 I등급에서는 1.09~2.09 범위로 평균치는 1.38 ± 0.40(mean + standard deviation), II등급에



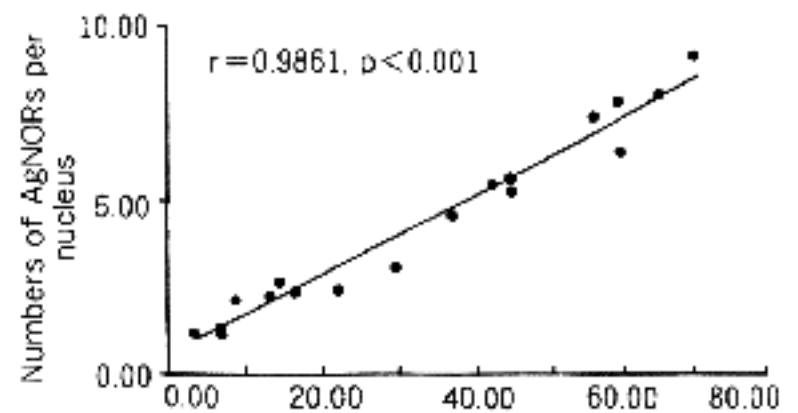


**Fig. 2.** Immunostaining for PCNA a; Nuclear grade I of RCC shows a few positive cells. b; Nuclear grade II of RCC shows some positive cells. c; Nuclear grade III of RCC shows many positive cells. d; Nuclear grade IV of RCC shows more numerous, strong positive cells than grade III. RCC: Renal cell carcinoma.

서는 2.21~3.05 범위로 평균치는  $2.53 \pm 0.33$ , III등급에서는 4.53~6.37 범위로 평균치는  $5.43 \pm 0.66$ , 그리고 IV등급에서는 7.29~9.05 범위로 평균치는  $7.88 \pm 0.72$ 이었다. 따라서 핵등급에 따른 핵당 AgNORs 평균수는 그 등급이 높아질수록 유의있게 증가하였다 ( $p=0.0005$ )(Table 2).

### 3. 핵등급에 따른 PCNA 표지지수

신세포암종의 핵등급에 따른 PCNA 표지지수는 I등급에서는 3.36~8.89% 범위로 평균치는  $5.90 \pm 2.36$ , II등급에서는 13.35~29.59% 범위로 평균치는  $19.30 \pm 6.71$ , III등급에서는 36.91~60.02% 범위로 평균치는  $45.73 \pm 8.62$ , 그리고 IV등급에서는 56.23~70.95% 범위로 평균치는  $61.83 \pm 6.34$ 이었다. 따라서 핵등급에 따른 PCNA 표지지수는 그 등급이 높아질수록 유의있게 증가하였다( $p=0.0008$ )(Table 3).



**Fig. 3.** AgNORs and PCNA were significantly correlated ( $r=0.9861$ ,  $P<0.001$ ).

### 4. AgNORs 평균수와 PCNA 표지지수사이의 상관관계

각 표본마다 AgNORs 수와 PCNA 표지지수를 함께 핵등급에 따라 비교하면 선상배열을 하고 있고,

Pearson 상관계수는 0.9861로 유의성이 인정되었다 ( $p < 0.001$ )(Fig. 3).

## 고 찰

악성종양의 증식능 측정은 종양성장의 믿을만한 표지자가 될 수 있다. 따라서 PCNA, p53단백, EGF (epidermal growth factor) 등의 면역조직화학 염색을 위시하여 AgNORs 수계산, 유세포 측정기를 이용한 핵의 배수성 검사, 그리고 영상세포계측법등이 표지자로 이용된다.

본 연구에서는 신세포암종 조직에서의 AgNORs 수와 PCNA 표지 지수를 이용한 조직화학적 및 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

핵소체 조성부(NORs)는 핵소체에 존재하는 DNA 고리로 ribosomal ribonucleic acid(rRNA)유전자를 가지며, 이 부위에 작용하여 rRNA 전구체를 만들어, 궁극적으로 단백질합성에 중요한 리보솜을 만든다. NORs의 구성은 아직 정확히 밝혀지지 않았지만 RNA 중합효소 I, 110Kd의 C23단백, 37Kd의 B23단백 및 36Kd의 AgNORs단백등으로 구성되어 있다고 알려져있으며<sup>16,18,19</sup>, 이러한 단백질의 sulfhydryl기와 carboxyl기가 은이온과 침전을 일으키기 때문에 은기호성을 지닌다. 실제 NORs의 수는 증식성 혹은 종양성 병변에서와 같이 핵소체 활동이 많아질 때, 전사능이 증가할 때, 그리고 배수성이 증가하여 염색체수가 많아질 때 증가한다고 알려졌다<sup>20</sup>. 이런 NORs의 특성을 이용하여 종양세포의 증식능과 악성도를 측정할 수 있어 종양의 예후 판정에 사용하게 되었다. 검색하는 방법은 핵내 AgNORs의 평균 면적을 구하거나 평균수를 구할 수도 있고, 핵의 면적에 대한 AgNORs의 면적비를 구하는 등 다양한 방법이 있는데 본 연구에서는 핵당 AgNORs의 평균수를 구하였다.

1987년 Crocker 및 Nar<sup>21</sup>는 비호즈킨 림프종에서 핵당 AgNORs 평균수를 구한 바 악성도가 낮은 림프종에서는 1~1.5개의 AgNORs 수를 보인 반면 악성도가 높은 림프종에서는 4.4~6.8개를 보여 악성도에 따른 수의 차이에 통계학적 의의가 있다고 보고하였다. 그 후 이러한 차이는 모반세포성 모반과 악성흑색종간에서도 관찰되었다<sup>22</sup>. 또한 Crocker 및 McGovern<sup>23</sup>과 윤등<sup>11</sup>은 정상 간조직과 간경변증 및 간세포암종 사이에서 AgNORs의 수에 차이가 있음을 보고하였고, Likovsky등<sup>24</sup>은 활동성 간경변증이 비활동성 간경변증에서보다 AgNORs 수가 통계적으로 더 높다고 보고 하였다. 그외에도 유방암<sup>20</sup>, 성상

교세포종<sup>12</sup>, 자궁경부암<sup>25</sup>, 위암<sup>25,26</sup>, 타액선 종양<sup>27</sup>, 섬유성증식질환<sup>28</sup>, 전립선 병변<sup>29</sup> 등에서 악성종양이 양성종양보다, 그리고 악성종양중에서도 악성도가 높을수록 더 높은 AgNORs 수를 보인다고 보고하였다. Bryan등<sup>30</sup>이 신장에서 7예의 선종, 9예의 투명세포암종 그리고 5예의 황색육아종성 신우신염(xantho-granulomatous pyelonephritis)에서 실시한 AgNORs연구에서, 선종과 투명세포암종사이에는 AgNORs 수가 별 의미있는 차이를 보이지 않았으나 투명세포암종과 황색육아종성 신우신염을 비교할 때 투명세포암종에서는  $3.06 \pm 0.59$ , 황색육아종성 신우신염에서는  $1.65 \pm 0.27$ 로 통계적으로 의미있는 차이가 있다고 보고하였다.

신세포암종에 있어서 AgNORs의 연구는 비교적 드물었는데 최근 Delahunt등<sup>31</sup>이 처음으로 182예의 신세포암을 Robson의 병기에 따라 연구한 결과, AgNORs의 수는 5년 생존율과 의미있는 상관관계가 있으나 Robson의 병기와는 별 관계가 없다고 하였다. 보고에 의하면 병기 III 또는 IV의 신세포암종에서 핵당 AgNORs수가 5개 이상일 경우 5년 이내에 대부분이 사망하나 같은 병기일지라도 핵당 AgNORs수가 3개 이하일 경우 그 생존기간은 의미있게 연장되었다. 그 이후 Oda 및 Machinami<sup>32</sup>가 44예의 신세포암종을 핵등급에 따라 분류하면서 핵당 AgNORs 평균수를 이용하여 종양의 증식능을 측정하였는데 각 등급에 따라 의미있는 차이를 보였으며 본 연구의 결과와 잘 부합하였다.

PCNA는 DNA중합효소  $\delta$ 의 보조단백질로 1978년 전신성 홍반성 낭창 환자의 혈청에서 처음 발견되었으며 정상적으로도 소량 존재하지만 암세포내에서는 다량 검출된다고 한다<sup>33</sup>. 이는 PCNA가 핵내 DNA합성에 보조인자로서의 정상적인 기능외에 비계획성 DNA합성에도 역시 관여하기 때문이다<sup>34</sup>. 세포주기 특히 S기에 복제장소(replication site)에 비례하여 가장 심한 증가를 보이며<sup>35</sup> 항 PCNA항체는 DNA 복제 부위의 단백질과 결합하는 특이성이 높아 이를 이용하여 증식하는 세포를 표지할 수 있다. 방광암<sup>36</sup>, 성상교세포종<sup>23</sup>, 유방암<sup>37</sup>등에서의 조직학적 등급과 연관된 PCNA 표출에 관한 연구에서 모두 조직학적 등급이 높을수록 PCNA 표출이 높으므로 악성도를 잘 반영한다고 보고하였다.

신세포암종에서의 PCNA에 관한 연구는 비교적 드물었는데 1993년 Tanioka등<sup>38</sup>이 81예의 신세포암종을 대상으로 PCNA 표출과 유세포 측정기를 이용한 DNA 배수성 검사를 실시하였다. 핵등급 I과 II사이에는 PCNA 표출 정도의 차이는 유의하지 않았으나,

핵등급 I과 III사이에서는 유의하였다. 그리고 PCNA 양성의 종양세포는 두배수체(diploid)보다는 이수배수체(aneuploid) 종양에서 더 높은 비율로 나타났으나 PCNA 양성의 정도와 병기와는 별 관계가 없는 것으로 보고하였다. 그 외에 Oda 및 Machinami<sup>32</sup>는 44예의 신세포암종을 핵등급에 따라 분류하면서 PCNA 표출정도와 각 등급간에 유의한 차이가 있었다고 보고하면서 특히 핵등급 IV의 육종양 신세포암종의 생물학적 활성도와 임상적 악성도를 규명하였다. 저자가 실시한 신세포암종의 PCNA 면역조직화학 염색에서도 각 조직학적 핵등급간에 유의한 차이를 보여 전술한 연구의 결과와 잘 부합하였다.

따라서, 다양한 임상적 경과와 형태학적 소견을 보이는 신세포암종에 있어서 종양의 악성도를 잘 반영하는 AgNORs 수와 PCNA 표지지수는 종양세포의 핵등급과 밀접한 상관관계를 가짐이 관찰되었다.

### 결 론

저자는 신세포암종의 각 핵등급별 5예씩 총 20예에서 AgNORs 평균수와 PCNA표지지수를 위한 조직화학적 및 면역조직화학적으로 검색하여 얻은 성적을 다음과 같이 요약하였다.

1) 핵등급별 AgNORs 평균수는 I등급이  $1.38 \pm 0.40$ , II등급이  $2.53 \pm 0.33$ , III등급이  $5.43 \pm 0.66$ , 그리고 IV등급이  $7.88 \pm 0.72$ 로 등급이 높아질수록 통계적으로 유의있게 증가하였다( $p=0.0005$ ).

2) 핵등급별 PCNA 표지지수는 I등급이  $5.90 \pm 2.36$ , II등급이  $19.30 \pm 6.71$ , III등급이  $45.73 \pm 8.62$ , 그리고 IV등급이  $61.83 \pm 6.34$ 로 역시 등급이 높아질수록 통계적으로 유의있게 증가하였다( $p=0.0008$ ).

3) AgNORs 평균수와 PCNA 표지지수사이에는 통계적으로 유의한 상관성이 있었다( $r=0.9861$ ,  $p<0.001$ ).

위에 기술한 성적에 의거하면 신세포암종에 있어서 종양세포의 증식능력의 평가에 이용되는 AgNORs 수와 PCNA 표지지수는 핵등급과 잘 부합되는 유의한 상관관계를 가진다고 생각되었다.

### 참 고 문 헌

1. Bennington JL. Cancer of the kidney-Etiology, epidemiology and pathology. *Cancer* 1973; 32: 1017-29.
2. Peterson RO. Urologic pathology. 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott 1986; 78-100.
3. Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma.

4. Skinner DG, Colvin RB, Vermilion CD. Diagnosis and management of renal cell carcinoma. A clinical and pathologic study of 309 cases. *Cancer* 1971; 28: 1165-77.
5. Selli C, Hinshaw WM, Woodard BH, Paulson DF. Stratification of risk factors in renal cell carcinoma. *Cancer* 1983; 52: 899-903.
6. Medeiros LJ, Gelb AB, Weiss LM. Renal cell carcinoma. Prognostic significance of morphologic parameters in 121 cases. *Cancer* 1988; 61: 1639-51.
7. Syrjanen K, Hjelt L. Grading of human renal adenocarcinoma. *Scand J Urol Nephrol* 1978; 12: 49-53.
8. Gilchrist KW, Hognu TF, Harberg J, Sonneland PR. Prognostic significance of nuclear sizing in renal cell carcinoma. *Urology* 1981; 124: 122-5.
9. Medeiros LJ, Gelb AB, Weiss LM. Low grade renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1987; 11: 633-42.
10. Rosa J, Mehta A, Filipe MI. Nucleolar organizer regions in gastric carcinoma and its precursor stages. *Histopathology* 1990; 16: 265-9.
11. 윤철희, 이상숙, 장은숙. 간세포암종의 진단에 argyrophilic nucleolar organizer regions(AgNORs)의 적용. *대한병리학회지* 1993; 27: 553-60.
12. 조미연, 정순희, 김태승, 한용표. 성상고세포종에서의 조직학적 등급과 AgNORs 수, PCNA 발현 및 유세포 측정기를 이용한 DNA 분석의 비교. *대한병리학회지* 1994; 28: 49-55.
13. Ljunberg B, Stenling R, Roos G. DNA content and prognosis in renal cell carcinoma. A comparison between primary tumors and metastases. *Cancer* 1986; 57: 2346-50.
14. 김준미, 김인선, 백승룡. 정상조직과 증식성 및 종양성 병변에서의 nucleolar organizer regions. *대한병리학회지* 1989; 23: 208-22.
15. Walker RA. The histological evaluation of nucleolar organizer proteins. *Histopathology* 1988; 12: 221-3.
16. Underwood JCE, Giri DD. Nucleolar organizer regions as diagnostic discriminants for malignancy. *J Pathol* 1988; 155: 95-6.
17. Bravo R, Frank R, Blundell PA, Macdonald-Bravo H. Cyclin/PCNA is the auxillary protein of DNA polymerase delta. *Nature* 1987; 326: 515-7.
18. Rowlands DC. Nucleolar organizer regions in cervical intraepithelial neoplasia. *J Clin Pathol* 1988; 41: 1200-2.
19. Lischwe MA, Shetana K, Olson MOH. Protein C23 and B23 are the major silver staining proteins. *Life Sci* 1979; 25: 701-8.
20. Mourad WA, Erkman-Balis B, Livingston S. Argyro-



- philic nucleolar organizer regions in breast carcinoma. *Cancer* 1992; 69: 1739-44.
21. Crocker J, Nar P. Nucleolar organizer regions in lymphoma. *J Pathol* 1987; 151: 111-5.
  22. Crocker J, Skilbeck N. Nucleolar organizer regions associated proteins in cutaneous melanotic lesions. A quantitative study. *J Clin Pathol* 1987; 40: 885-889.
  23. Crocker J, McGovern J. Nucleolar organizer regions in normal, cirrhotic, and carcinomatous livers. *J Clin Pathol* 1988; 41: 1044-8.
  24. Likovsky Z, Fabian E, Smetana K. Interphase nucleolar organizer regions visualized by silver reaction in human hepatocytes. *Hepatogastroenterology* 1987; 34: 106-7.
  25. Rowlands DC. Nucleolar organizer regions in cervical intraepithelial neoplasia. *J Clin Pathol* 1988; 41: 1200-2.
  26. Suarez V, Newman J, Hiley C, Crocker J, Collins M. The value of NOR numbers in neoplastic and non-neoplastic epithelium of the stomach. *Histopathology* 1989; 14: 61-6.
  27. Morgan DW, Crocker J, Watts A, Shenoi PM. Salivary gland tumors studied by means of the AgNOR technique. *Histopathology* 1988; 13: 553-9.
  28. Egan MJ, Raafat F, Crocker J, Smith K. Nucleolar organizer regions in fibrous proliferation of childhood and infantile fibrosarcoma. *J Clin Pathol* 1988; 41: 31-3.
  29. Deschenes J, Weinder N. Nucleolar organizer regions in hyperplastic and neoplastic prostatic disease. *Am J Surg Pathol* 1990; 14: 1148-55.
  30. Bryan RL, Crocker J, Farr A. Nucleolar organizer regions in kidney tumors and xanthogranulomatous pyelonephritis. *J Clin Pathol* 1990; 43: 147-8.
  31. Delahunt B, Ribas JL, Nacey JN, Bethwaite PB. Nucleolar organizer regions and prognosis in renal cell carcinoma. *J Pathol* 1991; 163: 31-7.
  32. Oda H, Machinami R. Sarcomatoid renal cell carcinoma. A study of its proliferative activity. *Cancer* 1993; 71: 2292-8.
  33. Miyachi K, Fritzier MJ, Tan EM. Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. *J Immunol* 1978; 121: 2228-34.
  34. Toschi L, Bravo R. Changes in cyclin PCNA distribution during DNA repair synthesis. *J Cell Biol* 1988; 107: 1623-8.
  35. Morris GF, Mathews MB. Regulation of proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle. *J Biol Chem* 1989; 264: 13856-64.
  36. 이상엽, 박영년, 박찬일. 방광 이행상피암종 예후인자로서의 PCNA 표지자수의 가치. *대한병리학회지* 1994; 28: 282-7.
  37. Leonardi E, Girlando S, Serio G, Mauri FA. PCNA and Ki 67 expression in breast carcinoma. Correlation with clinical and biological variables. *J Clin Pathol* 1992; 45: 416-9.
  38. Tanioka F, Hiroi M, Yamane T, Hara H. Proliferating cell nuclear antigen(PCNA) immunostaining and flow cytometric DNA analysis of renal cell carcinoma. *Zentralbl Pathol* 1993; 139: 185-93.
-