

자궁근과 자궁근종에서의 에스트로겐 수용체 (Estrogen receptor)와 프로게스테론 수용체 (Progesterone receptor) 표현에 관한 연구

— PCNA 표지수와의 상관관계를 중심으로 —

동국대학교 의과대학 병리학교실

김 정 란

Immunohistochemical Analysis of Estrogen Receptors and Progesterone Receptors in Leiomyoma of Uterus Compared with PCNA Index

Jung Ran Kim, M.D.

Department of Pathology, Dongguk University, College of Medicine

Estrogen receptor(ER) and progesterone receptor(PR) were studied immunohistochemically using specific antireceptor monoclonal antibodies in leiomyomas and myometrium from same patients from 38 women in various stages of the menstrual cycle, menopause and pregnancy. Two postpartum uteri are also included. Immunohistochemical localization was quantified as to intensity of staining and tissue distribution, and the results were compared with those of PCNA index. In all samples, ER and PR localized within the nuclei of target cells. The histochemical score of ER in leiomyoma was significantly greater than that found in myometrium. But ER in leiomyoma was expressed in cyclic fashion($r=0.45$, $P=0.006$), like as in myometrium, throughout the menstrual cycle, paralleled by a concomitant, though delayed. In contrast, PR content constantly maintained in myometrium and leiomyoma throughout menstrual cycle, and there was no significant difference between them. However, leiomyoma and myometrium of pregnancy showed a significant reduction in the amount of ER and PR localized. PCNA index in leiomyoma(14.9 ± 24.4) was also significantly higher than that found in myometrium(2.1 ± 3.3). The index declined throughout the secretory phase. The leiomyoma had increased PCNA index during pregnancy, while the increasing rate in leiomyoma was lower than that of myometrium. The growth potential of leiomyomas is apparently higher than that of myometrium under the high progesterone level. The most of neoplasm with high PCNA index(10 above) contained absolute or relative abundant PR or ER content. Alteration of receptor content may be an important mechanism in steroid dependent growth of leiomyoma and may provide information useful in the clinical management of this neoplastic disorder. (*Korean J Pathol* 1996; 30: 140 ~ 149)

Key Words: Estrogen receptor, Progesterone receptor, PCNA, Leiomyoma, Myometrium

접 수 : 1995년 8월 16일, 게재승인 : 1995년 12월 6일
주 소 : 경북 경주시 석장동 707번지, 우편번호 780-714
동국대학교 의과대학 병리학교실, 김정란

서 론

자궁근종은 자궁에서 발생하는 종양 가운데 가장 흔한 종양으로 발생원인은 확실하지 않다. 근종의 발생은 난소의 기능이 가장 활발한 가임기에 많고 초경 이전에는 매우 드물며, 폐경기 이후에는 그 크기가 감소된다. 또한 자궁근에서는 에스트로겐과 프로게스테론 수용체(ER 및 PR)가 존재함이 밝혀져 있어^{1,2} 자궁근종의 성장은 홀몬과 밀접한 관계가 있을 것으로 추정된다.

에스트로겐이 표적기관 특히 생식기계에 대한 중요한 기능은 스테로이드 홀몬이 수용체와 결합하여 복합체를 형성하고 이것이 RNA 합성과 세포 성장을 유도하는 것이다. 프로게스테론은 ER의 합성을 감소시키고 에스트로겐과 길항작용을 하여 에스트로겐의 기능을 변화시킨다³. 에스트로겐은 자궁근의 평활근세포에서와 같이 평활근종의 성장에도 영향을 미친다고 하며 자궁근종은 특히 에스트로겐의 자극에 민감하다^{4,5}. 이러한 평활근종의 스테로이드에 대한 반응은 종양의 ER이 정상조직의 ER과 비슷한 반응을 할 가능성을 시사하고 있으며 한편 임신이나 분비에 자궁근종의 세포 분열이 증가한다는 보고가 있다^{6,7}. 그러므로 평활근종의 성장에 미치는 난소 스테로이드 홀몬의 영향을 밝히는 데는 월경주기 및 임신 등의 홀몬 변화에 따른 종양세포의 활동성(kinetics)을 연구할 필요가 있다.

본 연구에서는 평활근종 조직을 파라핀에 포매한 후 ER과 PR의 단클론항체를 이용한 면역조직화학 검사로 ER과 PR의 분포 및 표현의 정도를 관찰하고 이를 반정량적으로 계수하여 통계적 분석을 시도하였으며 이 결과를 정상 자궁근과 비교하고 월경주기, 폐경기 및 임신 등의 홀몬변화에 따른 각각의 결과와도 비교관찰 하였다. 또 종양의 성장을 평가하기 위하여 PCNA(Proliferating cell nuclear antigen)^{8,9} 단클론항체를 이용한 면역조직화학 염색을 시행하고 ER과 PR의 표현 및 PCNA 양성률과 관련성을 검정하여 이 수용체와 종양발생과의 관계를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 자궁 조직 채취

연구재료는 동국대학 경주병원에서 평활근종으로 자궁절제술을 시행한 가검물 38예와 주산기 출혈로 인해 절제된 자궁 2예를 대상으로 하였다. 가검물은

모두 조직소견, 나이, 마지막 월경주기가 일치하는 것을 선택하였으며 38예 모두 홀몬제의 투여의 기왕력이 없었다. 수술후 즉시 자궁내막, 자궁근 및 근종에서 조직을 얻었으며 일부는 -70°C 에 얼리고 나머지는 10% 포르말린에 고정후 통상적인 방법으로 파라핀에 포매하였다. 월경주기는 자궁의 오른쪽 측면에서 얻은 내막의 조직소견과 마지막 월경주기를 참고하여 증식초기(1~7일), 증식후기(8~14일), 분비초기(15~22일), 분비후기(23~28일), 폐경기 및 임신으로 분류 하였으며 각각 7예, 10예, 5예, 8예, 5예 및 3예였으며 산욕기 자궁이 2예였다.

2. 면역조직화학 염색

1) ER 및 PR의 염색: 자궁근 및 종양조직은 전기를 띤 슬라이드(charged and precleaned slide, Fisher Biotech®, Fisher sci Co.)에 $4\ \mu$ 두께의 연속 절편을 만든 후 탈파라핀후 수세하고, 10 mM citrate buffer, pH6.0에 담가 121°C 에서 15분간 가압가열한 후 H_2O_2 와 차단혈청(blocking serum)에 부치시킨후 일차항체인 항 ER(DAKO Co.) 및 PR(Novocastra Co.) 단클론 항체를 1:150 및 1:30으로 희석하여 4°C 습식상자 안에서 밤새 부치시켰으며 발색은 아비딘 바이오틴 결합법을 이용하였다.

2) PCNA 염색: 폴리-L-라이진(Poly-L-Lysine)이 입혀진 슬라이드에 $4\ \mu\text{m}$ 두께의 절편을 만든후 탈파라핀하고 수세한후 일차항체인 PCNA(DAKO-PCNA®, PC10) 항체를 1:100으로 희석하여 1시간 반응시킨 후 아비딘 바이오틴 결합법으로 발색하였다.

3) 비특이성 반응의 확인: 양성 대조군으로는 자궁내막의 절편을 사용하였고 비특이성 퍼옥시다제의 반응에 의한 위양성 반응들은 확인하기 위해 각각 소태자 혈청, 이차항체, AEC용액, 그리고 이 모두를 생략하고 염색을 시도하여 양성 반응이 모두 특이 반응임을 확인하였다.

모든 절편은 Mayer 헤마톡실린으로 대조염색하였고 액성봉입제(immu-mount®, Shandon)로 봉입하였다. 파라핀 포매조직의 ER, PR 및 PCNA 면역화학 검사법은 시험례중 10예를 골라 자궁절편의 동결절편을 동시에 염색하여 비교하였으며 이들 사이에 컴퓨터 통계 프로그램을 이용하여 회귀분석(linear regression analysis)으로 ER과 PR 치가 모두 매우 유의한 상관 관계를 보임을 확인하였다(ER: $r=0.96$, $P<0.0001$, PR: $r=0.96$, $P<0.0001$).

3. 면역 조직화학 염색의 판정

ER과 PR에 대한 특이 염색의 강도와 분포는 Mc-

Carty 등^{10,11}의 반성량 검사법을 변형하여 사용하였다. 점수는 $\times 1000$ 배 고배율에서 200개의 세포를 계수하여 양성으로 염색된 세포수를 백분율로 표시하고 염색 강도에 따라 핵내 염색이 전혀 안된 경우를 0, 국소적이거나 미만성으로 약하게 염색되면 1, 국소적으로 강하게 염색되면 2, 미만성으로 강하게 염색된 경우를 3으로하여 4단계로 분류하였으며, 이 백분율은 P1, P2, P3 및 P4 등으로 표시하고 다음 수식으로 분석하였다(즉 $P_0=100\% - \sum_{i=1}^4 P_i$). 조직내 면역조직화학 점수(HS)는 이들 백분율을 염색강도를 곱하여 사용하였다. $[HS=(i+1)P_i, i=1,2,3,4, P_i$ 는 0~100%]. PCNA 표지지수는 고배율($\times 400$) 시야에서 10군데를 무작위로 선택하여 양성반응을 보인 핵의 수를 세수하였고 그 평균을 점수로 이용하였다.

4. 통계처리

검사는 정상자궁근과 평활근종을 5개의 홀몬주기 그룹군으로 나누어 홀몬주기, 자궁병변, 4 수용체 및 PCNA 표지지수 비교를 하고 월경주기에 따른 각각의 그룹에서 정상자궁과 자궁병변에서 ER과 PR표현의 차이에서 유의한 결과가 나온 경우를 선택하였다. 자료는 전산 입력후 SPSS/PC 를 이용하여 통계 분석하였다. 각 그룹간의 평균치의 비교는 짝지은 T-test와 Wilcoxon의 순위합 검정을 사용하였고 PCNA 수준에 따른 평활근종의 대응 위험도를 구하였다. P value는 $P<0.05$ 이하인 경우 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

항 ER항체, 항 PR항체, PCNA항체에 대한 특이한 면역화학 조직검사 소견은 평활근종 및 자궁근의 평활근 세포 모두에서 세포의 핵에서 염색되었으며 세포질내 염색상은 관찰되지 않았다. 양성 대조군으로 사용한 자궁내막에서도 유사한 소견을 보였다 (Fig 1, 2, 3).

1. 자궁근 및 자궁근종에 대한 ER의 표현

평활근종의 ER 표현정도(65.7 ± 20.5 , mean \pm SD)는 짝지은 가검물 간의 차이를 통계적으로 분석한 결과 정상자궁근의 평활근세포(52.7 ± 24.1 , mean \pm SD)보다 유의하게 높았다($P<0.05$). 정상자궁근에서 평활근세포의 ER의 표현은 증식초기(1~7일)에 58.5 ± 27.1 , mean \pm SD, 증식후기(8~14일)에 57.8 ± 25.0 , mean \pm SD, 분비초기(15~22일)에 45.0 ± 17.8 , mean \pm SD, 분비후기(23~28일)에 54.2 ± 22.4 , mean \pm SD로 증식초기에 가장 높았으나 개인차가 매우 심하여 통계적으로 유의하지는 않았다($P<0.1$). 평활근종의 ER농도는 증식초기에 60.3 ± 21.8 , mean \pm SD, 증식후기에 72.2 ± 19.8 , mean \pm SD, 분비초기 59.0 ± 22.54 , mean \pm SD, 분비후기에 73.9 ± 7.7 , mean \pm SD로 분비후기에 가장 높은 수치를 보였으며 각각의 그룹간에도 정상자궁근에 비하여 유의하게 높은 발현율을 보였다 $P<0.01$ (Table 1, Fig. 1). 폐경기에는 ER치가 정상자궁근(53.9 ± 3.7 , mean \pm SD)보다 평활근종(71.4

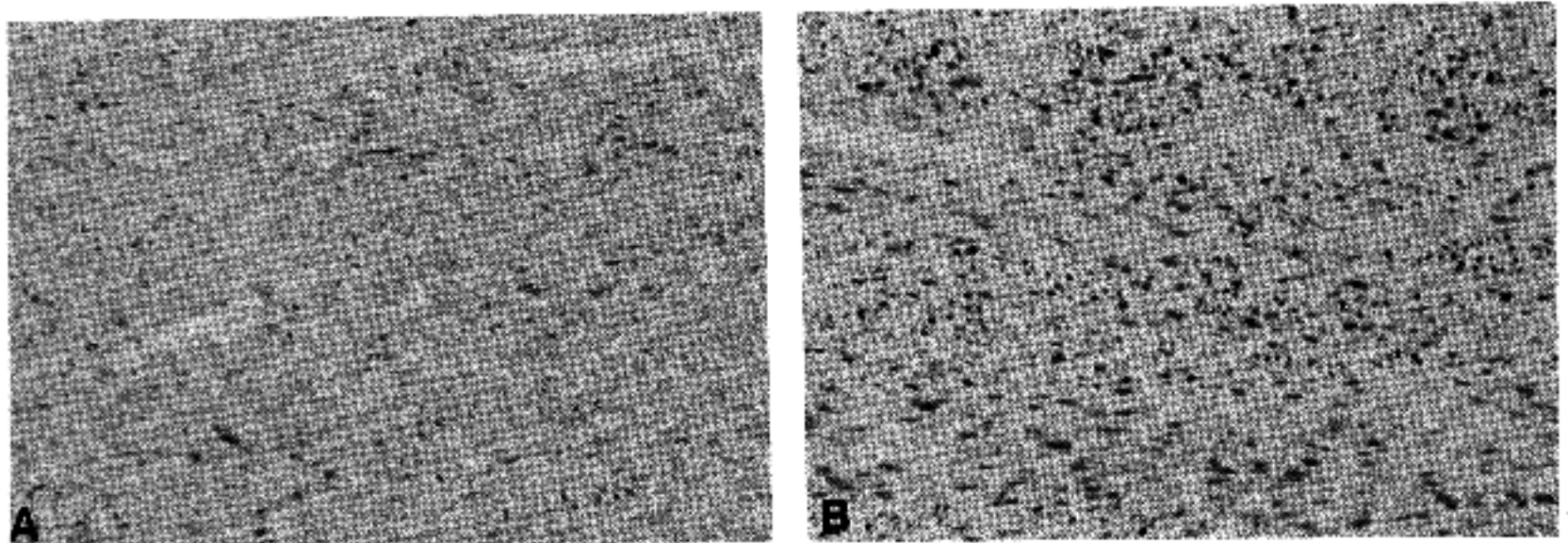


Fig. 1. Immunohistochemical staining for estrogen receptors(ER) in the late proliferative phase, demonstrating nuclear staining for ER in both leiomyoma cells(B) and myometrial smooth muscle cells(A). The intensity of reactivity for anti-ER in leiomyoma cells is stronger than that of myometrial cells. $\times 200$.

±13.8, mean±SD)에서 더욱 뚜렷한 증가를 보였다 (P<0.05). 임신시 정상자궁근의 ER성적은 초기에는 69 및 67.3으로 분비초기 또는 증식기보다 약간 증가하였으나 임신 중반기(24주)에는 성적이 38로 낮은 표현을 보였다. 동시에 시행한 2예의 산욕기 자궁근에서는 모두 0의 성적을 보였다. 그러나 평활근종의 조직내 변역조직화획 점수는 정상근보다도 낮은 수치(53.5, 32, 12)를 보였으며 3예가 모두 가임기 및 폐경기의 정상자궁근보다 낮은 표현율을 보였다 (Table 4). 평활근종의 ER의 농도는 각 개인간의 차이가 심하였으나 같은 기관의 자궁근조직의 수용체 농도와 사이에 유의한 상관 관계를 보였다(r=0.4504,

p=0.006)(Fig. 4).

2. 자궁근 및 자궁근종에 대한 PR의 표현

PR의 월경주기에 따른 변화는 정상자궁근에서 증식초기에 62.6±17.1, mean±SD, 증식후기에 77.7±5.6, mean±SD, 분비초기에 66.1±24.1, mean±SD, 분비후기에 75.3±16.2, mean±SD로 증식후기 즉 배란직전에 가장 높은 수치를 나타냈으며 폐경기에는 71.6±19.1, mean±SD이었으나 이들 그룹간의 차이는 유의하지 않았다. 자궁근종의 PR의 표현은 정상자궁근에 비하여 다소 강하게 염색되었으나(평활근종: 76.7±10, mean±SD, 정상자궁근: 73.3±16.8,

Table 1. Histochemical score(HS) of estrogen(ER) and progesterone receptor(PR) in myometrium and leiomyoma

	ER				PR			
	Leiomyoma		Myometrium		Leiomyoma		Myometrium	
	Number of case	HS	Number of case	HS	Number of case	HS	Number of case	HS
Early proliferative phase	7	60.3±21.8	7	58.5±27.1	7	70.6±9.2	7	62.6±17.1
Late Proliferative phase	10	72.2±19.8	10	57.8±25.0 ^{*3}	10	77.1±12.5	10	77.7±5.6
Early secretory phase	5	59.0±22.5	6	45.0±17.8 ^{*1}	5	82.0±8.8	9	66.1±24.1
Late secretory phase	8	73.9±7.7	8	54.2±22.4 ^{*1}	8	79.5±10.4	8	75.3±16.2
Menopause	5	71.4±13.8	5	53.9±3.7 ^{*1}	5	73.8±4.2	5	71.6±19.1
Pregnancy	3	32.5±20.7	5	34.9±34.1	3	52.8±6.6	5	83.3±19.6
Total	38	65.7±20.5	41	52.5±24.1 ^{*2}	38	76.7±10.0	41	73.3±16.8

^{*1}mean±SD, ^{*1}P<0.01 based on Wilcoxon Rank Sum Test, ^{*2}P<0.05 based on difference of paired T-Test
^{*3}P<0.1 base of Wilcoxon Rank Sum Test

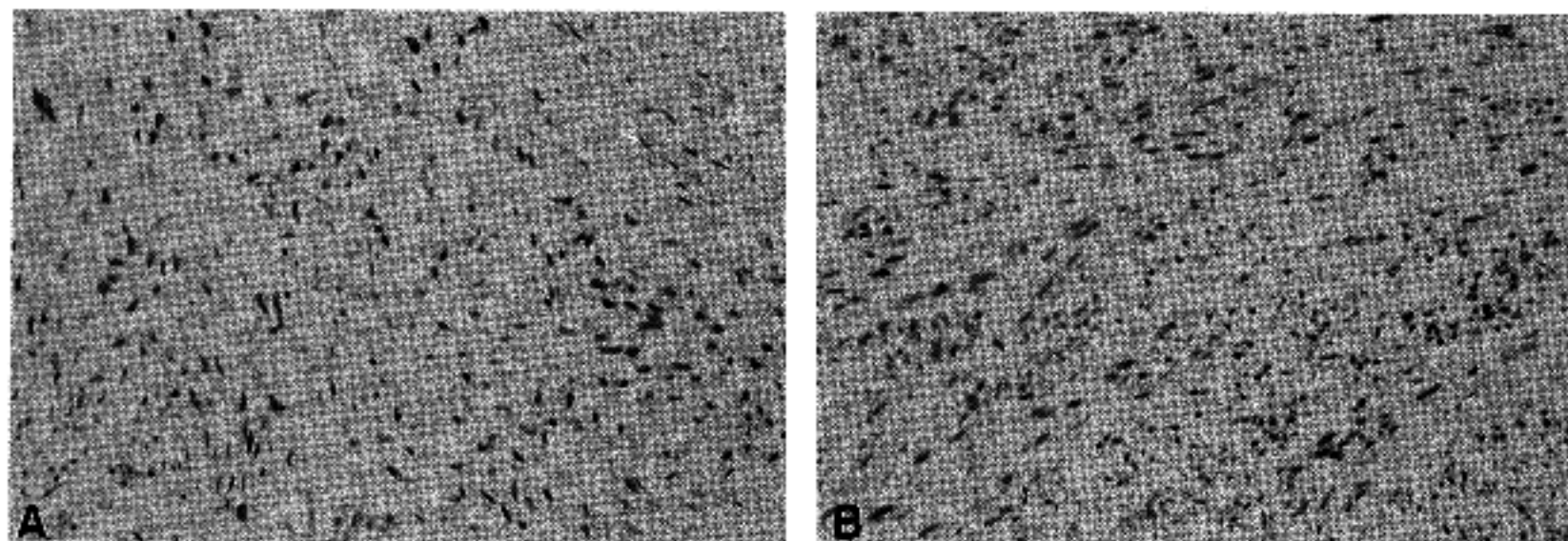


Fig. 2. Immunohistochemical identification of PR in same patient of Fig. 1. Nuclear specific staining is strong in myometrium(A) and leiomyoma(B). ×200.

mean ± SD) 유의하지 않았다(Fig. 2). 평활근종에서 PR의 홀몬의 주기에 따른 변화는 증식기에 비하여 (70.6 ± 9.2, 77.1 ± 12.5, mean ± SD) 분비기에 다소 증가하였으며(82.0 ± 8.8, 79.5 ± 10.4, mean ± SD), 임신시에는 정상시에 비해 감소하였다(정상: 83.3 ± 19.6, 자궁근종: 52.8 ± 6.6, mean ± SD)(Table 1).

3. ER과 PR의 비

ER치와 PR치의 비는 정상근이 0.86 ± 2.4, mean ± SD이나 평활근종에서는 0.9 ± 0.3, mean ± SD로 평활근종에서 약간 높았다(P < 0.1). ER/PR의 비의 월경주기에 따른 변화는 분비후기에 정상근에서 0.7 ± 0.3, mean ± SD, 평활근종에서 0.9 ± 0.2, mean ± SD, 평활근종에서 약간 높았다(P < 0.05). 그러나 임신시에는 ER/PR 표현의 비가 정상근(0.7 ± 0.6, mean ± SD)에 비하여 0.4 ± 0.2, mean ± SD로 낮은 비를 보였다(Table 2).

4. PCNA 양성들

PCNA 양성세포는 정상 자궁근의 평활근세포에서 아주 드물게 관찰되었으며 자궁근종의 PCNA 양성세포의 평균치는 14.9 ± 24.4, mean ± SD으로 자궁근(2.1 ± 3.3, mean ± SD)보다 유의하게 높았다(P < 0.01)(Table 3, Fig. 3). 정상자궁근의 PCNA 양적인 세포수는 증식초기에 1.4 ± 3.2, mean ± SD, 증식후기에 0.5 ± 0.5, mean ± SD, 분비초기에 6.2 ± 4.5, mean ± SD, 분비후기에 2.9 ± 4.0, mean ± SD으로 증식기보다 분비기에 유의하게 높으며, 분비초기에 가장 높았다

Table 2. ER/PR ratio in myometrium and leiomyoma

	Leiomyoma		Myometrium	
	Number of case	Ratio	Number of case	Ratio
Proliferative phase	17	0.9 ± 0.3	17	0.8 ± 0.5
Early secretory phase	5	0.7 ± 0.2	6	0.8 ± 0.5
Late secretory phase*	8	0.9 ± 0.2	8	0.7 ± 0.3
Menopause	5	1.0 ± 0.2	5	0.8 ± 0.3
Pregnancy	3	0.4 ± 0.2	5	0.7 ± 0.6
Total [†]	38	0.9 ± 0.3	41	0.86 ± 2.4

ER/PR=Estrogen receptor/Progesterone receptor
mean ± SD *P < 0.05, †P < 0.1

(P < 0.05). 평활근종에서는 증식초기에 4.0 ± 4.1, mean ± SD, 증식후기에 22.8 ± 36.3, mean ± SD, 분비초기에 13.8 ± 10.8, mean ± SD, 분비후기에는 8.2 ± 7.3, mean ± SD으로 정상 자궁근과 다르게 분비초기에 PCNA치가 가장 높았으며, 증식후기를 제외하면 평활근종에서 유의하게 높았다(P < 0.05)(Table 3). 임신시에는 정상자궁근이 5.5 ± 4.5, mean ± SD으로 증식기보다는 높은 수치를 보였으며 평활근종에서도 16.7 ± 2.4, mean ± SD로 증가되어 있었다(Table 3, 4). 분비후기에는 유의하게 PCNA 발현율이 감소하였으며 임신

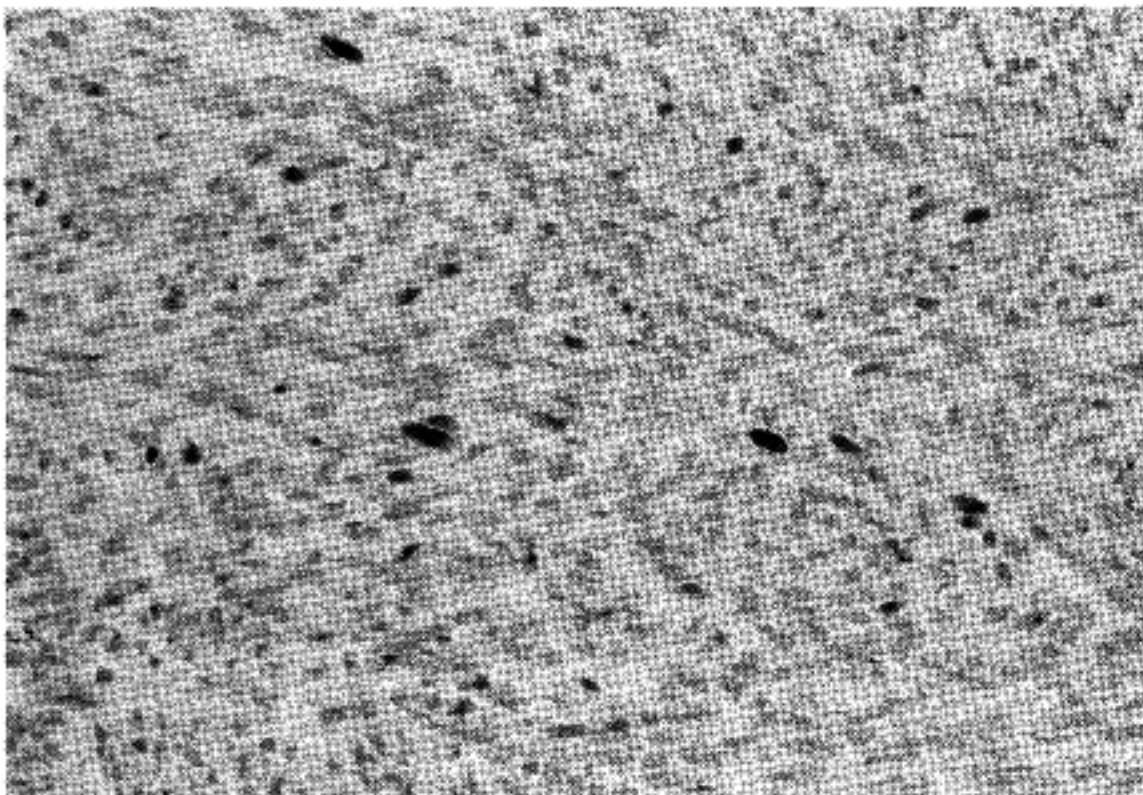


Fig. 3. Immunohistochemical staining for PCNA demonstrating nuclear staining in leiomyoma in proliferative phase, same patient of Fig. 1. ×200.

Table 3. The mean count of PCNA positive cells* in myometrium and leiomyoma

PCNA	Leiomyoma		Myometrium	
	Number of case	Count	Number of case	Count
Early proliferative phase* ¹	7	4.0 ± 4.1	7	1.4 ± 3.2
Late proliferative phase* ¹	10	22.8 ± 36.3	10	0.5 ± 0.5
Early secretory phase* ¹	5	13.8 ± 10.8	8	6.2 ± 4.5
Late secretory phase	8	8.2 ± 7.3	8	2.9 ± 4.0
Menopause	5	29.1 ± 37.4	5	1.0 ± 1.5
Pregnancy	3	16.7 ± 2.4	5	5.5 ± 4.5
Total* ²	38	14.9 ± 24.4	38	2.1 ± 3.3

*The count in ten consecutive high-power fields, mean ± SD, *¹P<0.05 based on Wilcoxon Rank Sum Test, *²P<0.01 based on difference of paired T-test, PCNA= Proliferating cell nuclear antigen

시에도 정상자궁에서 PCNA 양성세포수의 증가물에 비하면 상대적으로 낮은 양성물을 보였다. 폐경기에는 PCNA 양성률이 1.0 ± 1.5, mean ± SD으로 급격한 감소를 보였으나 자궁근종은 29.1 ± 37.4, mean ± SD로 개인차가 심하였지만 대체로 증가되어 있었다 (Table 3). 즉 평활근종에서는 가임기, 폐경기 및 임신 등 모든 시기에 PCNA 양성률이 유의하게 증가하였다. 그러나 폐경기의 평활근종은 개인적인 차가 매우 커서 PCNA 양성세포수가 5예중 3예에는 전혀 관찰되지 않았으나 2예에서는 매우 높은 양성율을 보였다

PCNA치의 평활근종과 정상자궁근 사이의 차이를 검정한 결과 교차비(Odds ratio)가 7.75였으며 PCNA치가 10 이상인 경우에는 교차비가 12.6이었다(Table 5). 평활근종의 PCNA치가 10 이상인 경우는 14예로 증식기가 14예중 2예(14.3%), 분비후기가 8예중 7예(87.5%), 폐경기가 5예중 2예(40%), 임신시에는 3예중 3예(100%)였다. PCNA가 10 이상인 경우 평활근종에서 ER 및 PR치가 정상근의 수치와 비교하면 심한 변화를 보였으며 ER치가 매우 높고 PR은 거의 정상 범위인 경우 1예, ER치가 높고 PR치가 낮은 경우 2예, PR치가 매우 증가하고 ER치가 정상범위인 경우 1예, PR치가 감소하고 ER치가 정상범위인 경우 6예, ER치가 감소하고 PR치가 증가한 경우가 4예로 심한 ER 및 PR치의 심한 불균형을 보였다. 즉 대체로 평활근종에서는 ER치가 PR치에 비하

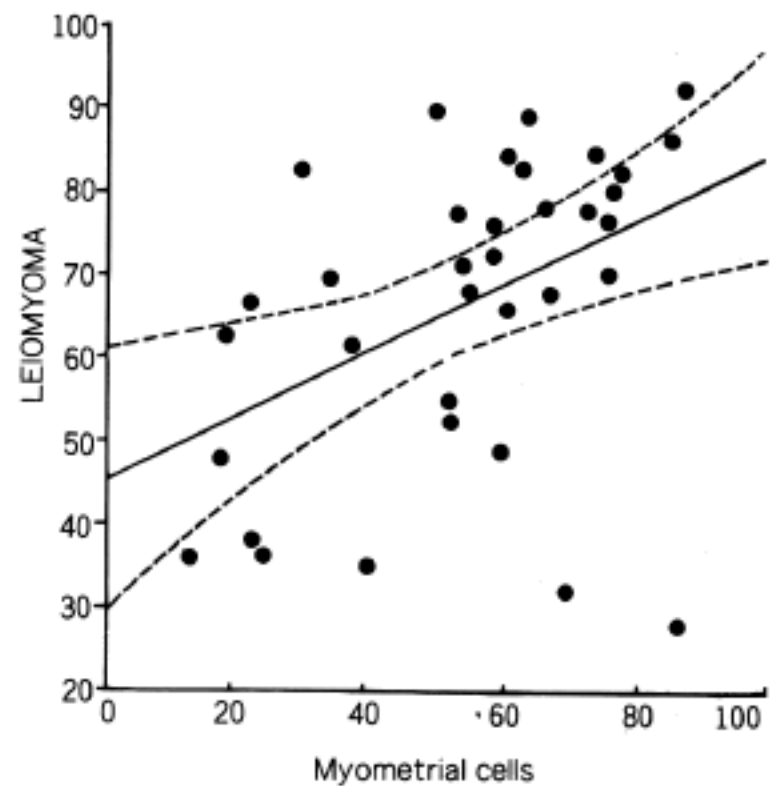


Fig. 4. ER histochemical scores of leiomyomas correlated with that of myometrial cells, paralld by concomitant. r=0.45, P=0.006.

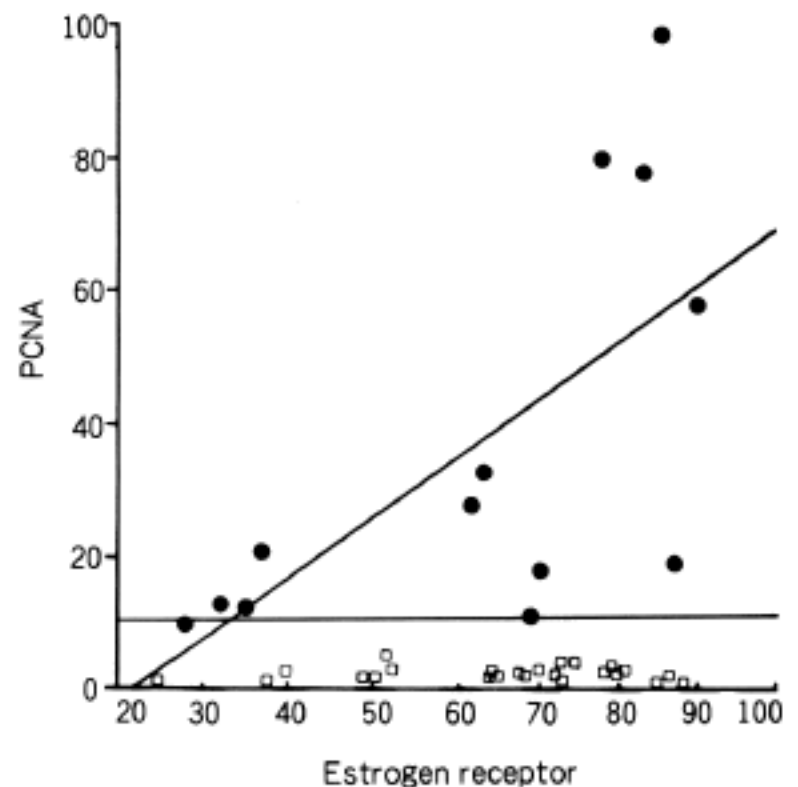


Fig. 5. ER histochemical score corresponding to leiomyoma which expressed high PCNA index(10above). r=0.66(r²=0.43), P=0.015.

여 상대적으로 매우 높거나(8예)(r=0.66)(r²=0.43), P<0.01)(Fig. 5), PR치가 상대적으로 증가(5예)한 경우들이었다.

Table 4. HS of ER and PR expression and mean count of PCNA positive cells during pregnancy

Case	ER		PR		ER/PR		PCNA		Remark
	Leiomyoma	Myometrium	Leiomyoma	Myometrium	Leiomyoma	Myometrium	Leiomyoma	Myometrium	
1	53.5	67.3	90.3	53.5	0.45	0.94	25	16	4GW
2	32	69	80	73	0.59	1.25	13	0	5GW
3	12	38	78	96	0.15	0.39	12	3.6	24GW
4	-	0	-	98	-	-	-	4.2	Postpartum
5	-	0	-	96	-	-	-	3.6	Postpartum

HS=Histochemical score, ER=Estrogen, PR=Progesterone, PCNA=Proliferating cell nuclear antigen weeks, GW=Gestational weeks

Table 5. Comparison of PCNA count* to leiomyoma vs normal myometrium

PCNA\No	Leiomyoma	Myometrium	O.R
0~4	16	31	1.00
5~9	8	3	4.52
10 above	14	2	12.59
Total	38	41	7.75 (2.19~30.57)

P<0.05

O.R=Odds Ratio, No=Number of case, PCNA=Proliferating cell nuclear antigen, *The count in ten consecutive high-power fields

고 찰

ER과 PR에 대한 화학적인 리간드결합법(ligand-binding study)은 조직의 세포파쇄(homogenization)가 필요하며 개별적인 세포의 스테로이드 수용체에 대한 평가를 할 수 없다. 그러나 단클론 항체를 이용한 면역조직화학 염색법은 세포수준에서 ER과 PR에 대한 개개세포의 핵수용체를 직접 보여주며 반정량적 분석을 가능하게 하는 장점이 있다.^{1,10}

본 연구는 면역조직화학을 이용하여 월경주기 및 폐경기 등의 홀몬주기에 따른 정상 자궁근 및 평활근종의 ER과 PR을 표현을 관찰하고 반정량적 분석을 시도하였다. 정상 평활근 세포에서 ER의 표현은 홀몬주기에 따라 다소의 차이는 있으나 지속적 발현을 보였고 프로그스테론치가 높은 임신시에는 ER의

표현이 감소되었다. 자궁근의 월경주기에 따른 변화는 증식후기에 가장 높고, 배란 후 감소하였다가 분비후기에 증가하였다. 폐경기에는 가임기보다 다소 낮은 수치를 보였다. Press등¹²은 자궁의 평활근세포에서는 ER의 농도가 월경주기에 따른 특이한 변화가 없다 하였으나, 대부분의 저자들은^{6,13,14,15} 자궁근에서도 자궁내막과 비슷한 주기변화를 보인다고 하였으며 증식기에 높고 분비기에 낮다하였다. Kawaguchi등⁶은 ER의 표현이 분비기와 임신시에는 감소한다 하였고 Pellikka등¹⁶의 등전점 전기영동(isoelectric focusing)을 이용한 연구에서는 ER농도는 가임기 여성에서 폐경기 여성보다 다소 높다 하였다. Khan-Dawood등¹⁷은 생화학적 방법으로 임신 말기의 자궁근에서 ER의 표현이 없다하였고 Kawaguchi등⁶은 ER의 감소를 보았다고 하였다. 본 연구에서 산욕기 자궁 2예에서는 ER의 표현이 관찰되지 않았으나 임신 초기 및 중기에는 비교적 높은 발현치를 보였다(Table 4). 정상자궁의 평활근세포에서 PR의 표현은 월경주기, 폐경기 및 임신과 관계없이 지속적으로 표현되었으며 증식초기에 가장 낮은 표현을 보였고 증식후기에 다소 증가하였으나 유의하지는 않았다. 다른 대부분의 보고에서도 자궁근에서 PR은 ER과는 달리 지속적으로 표현된다고 하였다^{6,13,15}.

평활근종에서는 ER과 PR은 모두 강하게 표현되었다. 이런 소견은 다른 보고와 일치하는 소견이다.^{1,3,4,6,18} 또 ER과 PR에 대한 생화학적인 방법을 이용한 측정에서 ER은 자궁근보다 평활근종에서 높다고 하였으나^{1,3,4} 일부연구에서는 차이점이 없었다¹⁸. 이런 결과는 생화학적인 방법은 세포질내의 수용체 농도를 측정했기 때문으로 사료되며 면역조직학적 연구에서는 두 스테로이드 수용체가 모두 세포질이 아닌 핵에서 관찰되었다^{6,19,20,21}. Otubu등⁴은

자궁근종에서 에스트라디올(estradiol)치가 정상자궁근보다 유의하게 높았다고 하였으나 두 조직 사이에 에스트로겐 친화력 및 sucrose density gradients에서 침전에는 차이가 없다하였고 이러한 정량적인 차이는 ER의 농도의 차이에 기인 된다고 하였다. ER은 폐경기 및 가임기 여성에서 모두 정상자궁근에 비하여 유의하게 높은 표현을 보였을 뿐 아니라 월경주기에 따른 변화도 관찰되었으며 정상자궁근과는 달리 분비후기에 가장 높은 수치를 보였다. Pollock⁴은 자궁근보다 근종에서 에스트라디올(estradiol)이 에스트론(estrone)의 전환되는율이 낮다하였고 이것이 국소적인 에스트로겐의 축적을 초래하거나, 높은 에스트로겐량이 ER과 PR표현을 유도하여 자궁근종에서 에스트로겐이 높은 상태로 유지될 가능성이 있다 하였으며, 이런 기전은 정상자궁근보다는 늦게 즉 정상자궁근에서는 ER치가 감소하는 분비후기에 ER의 발현이 증가하는 점을 설명할 수 있다 하겠다. 또 Kawaguchi⁶은 평활근종에서 ER은 임신 및 분비기에 낮게 발현한다고 하였다. 그러나 이 논문은 월경주기를 단순히 증식기 및 분비기로 분류하였으며, 자료의 통계적인 분석에 따른 유의성을 검정하지 않았다. 또 Wilson¹은 PR치의 농도가 자궁근종에서 유의하게 높다하였으나 Otubu⁴ 및 Kawaguchi⁶은 유의한 차가 없다고 하였다. 본 연구에서도 평활근종과 자궁근에서 심한 개인적인 차를 보였으나, 짝지은 검체(paired sample method)를 이용하여 검정한 결과 ER의 발현정도에는 유의한 차이가 관찰되었으나 PR의 경우에는 유의한 차이가 없었다. ER의 표현은 정상자궁에서 보이는 평활근세포의 월경주기에 따른 변화가 평활근종에서도 지속되고 있다. 평활근종에서 ER이 과발현되는 것은 분비기의 프로게스테론으로는 ER의 표현을 억압하는데에는 부족한 수준임을 암시하며 효과적으로 ER의 표현을 억압시키기 위해서는 고농도의 프로게스테론치가 필요하다는 점을 암시한다.

가임기, 폐경기 및 임신시 평활근종은 자궁근에 비하여 세포주기에 있는 세포수가 유의하게 높다 (Table 3). 이것은 평활근종이 자궁근보다 좀더 빨리 성장한다는 것을 의미하며 평활근종의 PCNA 양성율은 월경주기 및 임신에 따른 각 그룹에서 세포주기내에 있는 세포수는 각각의 집단에서 유의한 차이를 보였다. 임신 및 분비초기에는 정상자궁에서도 세포주기내에 있는 세포수가 유의하게 증가하였다. 이런 결과는 자궁의 평활근세포는 증식기의 에스트로겐 치하에서는 드물게 세포주기로 들어가지만 그 수가 프로게스테론의 영향을 받으면 증가한다는 것

을 의미하며 배란후 에스트라디올(estradiol)이 프로게스테론 효과를 증폭시킨다는 주장²²과 일치 하였다.

임신기에 ER표현의 감소는 대부분의 저자들의 연구결과와 일치되는 소견으로^{3,6,18} 평활근종은 프로게스테론치를 높여 주는 경우 ER의 표현을 감소시킬 가능성을 시사하며 평활근종에서 분비후기 및 임신시 PCNA양성률이 정상근의 증가에 비하면 상대적으로 낮은 증가를 보인점 등은 근래 실시되는 평활근종의 홀몬 치료²³의 중요한 학문적 근거를 이룰 것으로 사료되었다. Kawaguchi⁷은 임신 및 분비기에 세포분열수가 증가한다고 하였으며 Kawaguchi⁶은 자궁근과 평활근종세포 모두에서 Ki-67로 염색한 결과 분비기보다 임신시 양성세포수가 증가하며, 폐경기에는 양성세포를 관찰하지 못하였다. 그러나 본 연구에서는 임신 및 가임기 여성의 평활근종에서 PCNA치가 유의하게 증가되어 있었으며 폐경기에서도 2예에서는 PCNA치가 매우 높았다. 평활근종의 일부는 폐경기에도 크기가 감소되지 않고 증가되는 예들이 있는 것을 고려한다면 폐경기에 높은 PCNA치를 보인 것을 설명할 수 있으나 추후 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 생각되었다.

한편 PCNA양성율이 매우 높은 경우(10 이상)를 분석하면 이들은 주로 분비후기 및 임신기인 경우로 평활근종내 ER 및 PR치가 정상근에 비하여 대폭 증가하였거나 PR이 감소하여 상대적으로 ER이 증가된 경우였다. 이것은 평활근종내 ER이나 PR의 증가가 에스트로겐 및 프로게스테론의 국소화를 유발하여 근종의 성장을 촉진할 가능성을 시사하였다. Kawaguchi²⁴은 자궁근종세포 및 정상평활근 세포를 배양하여 성호르몬의 영향력을 검사한 결과 프로게스테론 단독으로 평활근종세포의 성장 효과를 보이는 것은 아니라고 하였다. 한편 Tamaya¹⁸은 PR에 대한 ER의 비가 정상자궁근에 비하여 평활근종에서 유의하게 높다고 하였으며 본 연구에서도 폐경기 및 가임기 환자의 근종에서 정상자궁근에 비하여 높은 수치를 보였고 적어도 분비후기에는 자궁근종에서 유의하게 높았다. 그러나 임신시에는 감소하였다(Table 3). 즉, 평활근종은 에스트로겐 및 프로게스테론 모두의 영향을 받으며 난소호르몬이 높은 시기 즉, 난소의 '활동이 왕성한 시기에 성장하고 폐경기 이후 등 난소의 스테로이드가 감소하면 평활근종의 성장이 멈출것으로 사료되었다. 그러나 성호르몬이 어떻게 분비기 및 임신시 자궁근 및 자궁평활근종의 세포주기내의 세포수를 증가시키는지에 대한 기전은 앞으로 더 연구되어야 하겠다.

결 론

자궁절제술이 시행된 자궁근종 38예에서 정상자궁근과 자궁근종의 면역조직화학적 방법으로 ER 및 PR의 표현 정도를 월경주기, 폐경기 및 임신에 따른 변화를 관찰하였다. 또 ER 및 PR의 표현을 염색의 강도 및 조직 분포를 이용하여 반정량화 하였고 그 결과를 PCNA치와 비교하였다.

모든 조직에서 ER과 PR은 표적세포의 핵에서 관찰되었다. ER의 표현은 자궁근종에서 주위 자궁근보다 유의하게 증가되어 있었으며 자궁근종에서도 자궁근에서와 마찬가지로 월경주기에 따른 주기성을 보였다($r=0.45$, $p=0.006$). 그러나 자궁근종에서는 자궁근과 비슷한 주기 반복을 보였지만 약간 지연되어 있었다. PR 표현은 월경주기를 통하여 자궁근과 자궁근종 모두에서 지속되었으며 자궁근과 근종 사이에 유의한 차를 관찰할 수 없었다. 그러나 임신 시에는 자궁근종의 ER 및 PR치가 유의하게 감소되어 있었다.

자궁근종의 PCNA치는 자궁근에 비하여 증가되어 있었으며 월경 주기중 증식기에 비하여 분비기에 감소되어 있었다. 임신기에 자궁근종의 PCNA치는 증가되어 있었지만 자궁근에 비하여 상대적으로 낮은 양성율을 보였다. 폐경기에는 정상 자궁근의 PCNA 양성률이 급격하게 감소되었지만 자궁근종에서는 대체로 증가되어 있었다. 즉, 자궁근종의 증식력은 프로게스테론 치가 높을 경우 자궁근에 비하여 높았다. 뿐만 아니라 PCNA치가 아주 높은 경우 (10 이상)를 분석하면 자궁근종의 PR과 ER은 정상 자궁근에 비하여 심한 불균형을 보였다.

결론적으로 에스트로겐 및 프로게스테론은 자궁근의 평활근세포에서와 마찬가지로 평활근종의 성장에도 영향을 준다고 믿어지며, 비정상적인 ER 및 PR의 발현이 스테로이드 호르몬에 대한 민감도에 변화를 주기때문이라고 생각되었다. 이런 결과는 임상적으로 이 종양을 치료하는데 중요한 지표가 될 것으로 사료되었다.

참 고 문 헌

1. Wilson EA, Yang F and Rees ED. Estradiol and progesterone binding in uterine leiomyomata and in normal uterine tissues. *Obstet Gynecol* 1980; 55: 20-24.
2. Hsueh AJW, Peck EJ, Clark JH. Estrogen induced uterine responses and growth: Relationship to receptor estrogen binding by uterine nuclei. *Endocrinology* 1975; 96: 160.
3. Nardelli GB, Mega M, Bertasi M, Siliotti F. Estradiol and progesterone binding in uterine leiomyomata and pregnant myometrium. *Clin Exp Obst Gyn* 1987; 14: 155-60.
4. Otubu JA, Buttram VC, Besch NF, Besch PK. Unconjugated steroid in leiomyomas and tumor-bearing myometrium. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 143: 130-2.
5. Soules MR, McCarty KS. Leiomyomas: Steroid receptor content-variation within normal menstrual cycles. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 143: 6-11.
6. Kawaguchi K, Fujii S, Konish I, Iwai T, Nanbu Y, Nonogaki H, Ishikawa Y and Mori M. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors, progesterone receptors and Ki-67 in leiomyoma and myometrium during the menstrual cycle and pregnancy. *Virchows Archiv A Pathol Anat* 1991; 419: 309-15.
7. Kawaguchi K, Fujii S, Konishi I, Nanbu Y, Nonogaki H, Mori T. Mitotic activity in uterine leiomyomas during the menstrual cycle. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 160: 637-41.
8. Mathews MB, Bernstein RM, Franza BR, Garrels JL. Identity of the proliferating cell nuclear antigen and cyclin. *Nature* 1984; 309: 374-6.
9. Lee SH, Hurwitz J. Mechanism of elongation of primed DNA by DNA polymerase delta, proliferating cell nuclear antigen and activator 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 5672-6.
10. McCarty KS Jr, Miller LS, Cox EB, Konrath J, McCarty KS Sr. Estrogen receptor analyses: correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. *Arch Pathol Lab Med* 1985; 109: 716-21.
11. Tesch M, Shawwa A, Henderson R. Immunohistochemical determination of estrogen and progesterone receptor status in breast cancer. *Am J Clin Pathol* 1993; 99: 8-12.
12. Press MF, Udove JA, Greene GL. Progesterone receptor distribution in the human endometrium: analysis using monoclonal antibodies to the human progesterone receptor. *Am J Pathol* 1988; 131: 112-24.
13. Sniijders MPML, De Goeij AFMP, Debets-Te Baerts MJC, Rousch MJM, Koudstaal J, et al. Immunocytochemical analysis of oestrogen receptors and progesterone receptors in the human uterus throughout the menstrual cycle and after the menopause. *J Reprod Fertil* 1992; 94: 363-71.

14. Tamaya T, Murakami T, Okada H. Concentrations of steroid receptors in normal human endometrium in relation to the day of the menstrual cycle. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1986; 65: 195-8.
 15. Lessey BA, Killam AP, Metzger DA, Haney AF, Greene GL and McCarty KS. Immunohistochemical analysis of human uterine estrogen and progesterone receptors throughout the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 334-40.
 16. Pellikka PA, Sullivan WP, Coulam CB and Toft DO. Comparison of estrogen receptors in human premenopausal and postmenopausal uteri using isoelectric focusing. *Obstet Gynecol* 1983; 62: 430-4.
 17. Khan-Dawood FS and Dawood MY. Estrogen and progesterone receptor and hormone levels in human myometrium and placenta in term pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 150: 501-5.
 18. Tamaya T, Fujimoto J, Okada H. Comparison of cellular levels of steroid receptors in uterine leiomyoma and myometrium. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1985; 64: 307-9.
 19. Welshons WV, Lieberman ME, Corski J. Nuclear localization of unoccupied estrogen receptors. *Nature* 1984; 307: 747-8.
 20. Nisolle M, Menten Y, Casanas-Roux F, Mathieu P, Wyns C and Donnez J. Immunohistochemical analysis of estrogen and progesterone receptors in endometrium and peritoneal endometriosis: a new quantitative method. *Fertil Steril* 1994; 62: 751-9.
 21. King WJ, Greene GL. Monoclonal antibodies localize estrogen receptor in the nuclei of target cells. *Nature* 1984; 307: 745-7.
 22. Ferenczy A, Guralnick M. Endometrial microstructure; Structure function relationships throughout the menstrual cycle. *Semin Reprod Endocrinol* 1983; 1: 205.
 23. Murphy AA, Kettel LM, Morales AJ, Roberts VJ, Yen SS. Regression of uterine leiomyomata in response to the antiprogesterone RU 486. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 513-7.
 24. Kawaguchi K, Fujii S, Konishi I, Okumura H, Moris T. Ultrastructural study of cultured smooth muscle cells from uterine leiomyoma and myometrium under influence of sex steroid. *Gynecol Oncol* 1985; 21: 32-41.
-