대한병리학회지 1997; 31: 1200~1213

소세포종양에 관한 면역조직화학적 및 전자현미경적 연구

조선대학교 의과대학 병리학 및 성형외과학교실*

서재홍 · 양정열* · 임성철 · 김용임

Immunohistochemical and Ultrastructural Observation on Small Round Cell Tumors

Chae-Hong Suh, M.D., **Jeong-Yeol Yang,** M.D.*, **Sung-Chul Lim,** M.D. and **Yong-Lim Kim,** M.D.

Departments of Pathology and Plastic Surgery*, College of Medicine
Chosun University, Kwangju, Korea

Small round cell tumors such as neuroblastoma, rhabdomyosarcoma, Ewing's tumor, malignant lymphoma and small cell carcinoma are often confused clinically and histologically.

To clarify the similarites and differences and to get more information on the histogenesis among the small round cell tumors, we examined histological, immunohistochemical and ultrastructural features of ten cases of neuroblastomas, twenty Ewing's tumors, ten embryonal rhabdomyosarcomas and twelve small cell carcinomas in children and young adults. Antibodies against desmin, vimentin, cytokeratin, neuron-specific enolase, synaptophysin, neurofilament, S-100 protein, chromogranin and HBA 71 were used in biotin streptavidin procedures.

The results of the immunohistochemical and electron microscopical examinations yielded virtually identical findings in each group as followings.

1) Among the twenty cases of Ewing's tumors, eighteen cases were positive in staining for HBA-71. The staining for HBA-71 was negative in neuroblastoma, embryonal rhabdomyosarcoma and small cell carcinoma.

2) Neuroblastomas had marked interdigitating cytoplasmic processes containing many microtubules and dense-core secretory granules, however, they were sparse and rare in Ewing's tumor.

3) Embryonal rhabdomyosarcoma showed actin-myosin bundles. According to differentiation, well differentiated rhabdomyosarcoma exhibited Z-band materials and external lamina.

4) Neuroblastoma showed ultrastructural evidence of a neuronal differentiation, but neuronal differentration is sparse and rare in Ewing's tumor. This ultrastructural feature strengthens the hypothesis that Ewing's tumor is derived not only from an undifferentiated neuroectodermal stem cell but from primitive cell of neuroectodermal origin. **(Korean J Pathol 1997; 31: 1200~1213)**

Key Words: Small round cell tumor, Immunohistochemistry, Ultrastructure

접 수: 1997년 6월 17일, 게재승인: 1997년 8월 28일
주 소: 광주시 동구 서석동 588번지, 우편번호 501-140
조선대학교 부속병원 해부병리과, 서재홍
ISSN : 0379-1149
이 논문은 1995년도 조선대학교 학술연구비 지원 및 우수연구센터 기자재 활용에 의해 연구되었음.

서 론

신경모세포종은 어린아이의 두개외 종양중 가장 많으며, 어린아이의 모든 악성종양 중 8~10%를 차지하며 유아초기 및 소아에서 가장 빈번히 발생한다.

유잉육종, 림프종, 횡문근육종, 소세포 골육종 역시 조직학적 및 임상적으로 소아의 소원형세포 종양이라는 비슷한 종양군에 속하여, 광학현미경적 판독 소견으로는 감별하기 어려운 질환이다.[1,2]

그러나 최근의 종양에 대한 전자현미경적 검색 및 면역조직화학적 기술의 발달은 이 종양의 감별을 유용하게 하여주는데, 유잉육종의 기원에 관해서 아직도 논란이 많은 상태이다.

본 연구에서 소원형 세포 종양인 원발성 및 전이성의 골 및 연부조직에서 발생한 유잉육종 20예와 10예의 신경모세포종, 10예의 배아성 횡문근육종 그리고 12예의 소세포 암종을 대상으로 하여 전자현미경과 면역조직화학적 염색을 이용하여 개개의 소원형세포 종양들을 감별 평가하였을때, 각 종양의 면역조직화학적 염색의 특이성과 초미세구조의 차이점 그리고 유잉육종의 기원을 밝히는데 목적을 두어 본 실험을 시행하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

연구재료는 조선대학교 부속병원과 미국 University of Texas M.D. Anderson Cancer Center에서 수술적으로 제거된 유잉육종 (20예)와 신경모세포종 (10예), 배아성 횡문근육종 (10예) 그리고 소세포 암종 (12예)을 대상으로 하였으며, 각 종양 조직을 10% 중성포르말린 고정과 파라핀 포매후, Hematoxylin-Eosin (H-E)염색하에서 상기 종양으로 진단된 예중에서 조직학적 재검토와 면역조직화학적 그리고 전자현미경적으로 검토하였다.

2. 연구방법(Table 1)

파라핀 포매조직의 절편을 4 μm로 박절하여 탈파라핀과 함수과정을 거친 후 3% H_2O_2- methanol용액으로 5분간 조직내 내인성 과산화효소의 활동을 저지시키고 phosphate-buffered saline (PBS)에 담근 후 단백질과의 비특이성 결합을 억제시키기 위하여 normal goat serum과 5분간 반응시켰다. Table 1에 수록된 일차항체를 30분간 반응시킨 후 PBS에서 수세한 후 발색제인 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC)를 이용하여 현미경 검색하에 발색시킨 후 hematoxylin으로 대조 염색하고 crystal mount로 봉입하여 관찰하였다.

Table 1. Primary antibodies used in this study

Antibody	Clone	Dilution	Source
DES	D_{33} MoAb	1:1000	Dako Corp
VIM	V9 MoAb	1:60	Dako Corp
CK	"cocktail" of 3 MoAbs: AE1/AE3 CAM 5.2	1:400	Boehringer-Mannheim
NSE	PoAb(rabbit)	1:1000	Dako Corp
SYN	SY 38 MoAb	1:500	Sigma(St.Louis Mo)
NF	2F11 MoAb	1:1000	Dako Corp
S-100	PoAb(rabbit)	1:1200	Dako Corp
CHROM	LK2H10	1:2000	Boehringer-Mannheim
HBA71	$P30/32^{MIC2}$	1:200	Signet laboratories (Dedham,MA,U.S.A)

DES: Desmin, VIM: Vimentin, CK: Cytokeratin, NSE: Neuron specific enolase, SYN: Synaptophysin, NF: Neurofilament, S-100: S-100 protein, CHROM: Chromogranin

Table 2. Immunohistochemical comparison of small round cell tumors

	DES	VIM	CK	NSE	SYN	NF	S-100	CHROM	HBA71	LCA
Neuroblastoma(10)	0	3	0	7	10	0	1	0	0	0
Rhabdomyosarcoma(10)	10	7	1	7	0	0	0	0	0	0
Ewing's tumor(20)	0	15	2	11	8	0	0	0	18	0
Small cell carcinoma(12)	0	0	12	6	3	0	0	3	0	0

LCA: Leukocyte common antigen
( ): total case number
Arabic numerals: case number of positive reaction

3. 염색반응의 결과판정

광학현미경으로 관찰하여 세포막과 세포질에 뚜렷한 과립상의 갈색 발색제가 나타나는 세포를 양성, 발색되지 않은 세포를 음성, 그리고 소수의 세포에서 약한 갈색으로 염색된 경우를 약양성으로 판정하였다.

4. 전자현미경적 관찰

종양조직을 신속히 1 mm^3의 크기로 잘라서 2.5% glutaraldehyde용액(0.1M Cacodylate buffer, pH 7.4, 4°C)으로 2시간 고정하고 cacodylate buffer로 세척한 뒤, 1% O_sO_4용액(0.1M Cacodylate buffer, pH 7.4)에 2시간 고정하고, 같은 cacodylate buffer로 재세척 하여 계열 에틸알콜로 탈수한 후 propylene oxide로 침투시켰다. Millonig방법[3]에 의한 epon mixture로 포매하여 60°C에서 72시간 중합시켰다. LKB microtome으로 초박절편을 만들어 Reynolds법[4]에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색을 하여 JEM CXII형 전자현미경으로 가속전압 60 kV에서 관찰하였다.

결 과

1. 광학현미경적 소견

신경모세포종 (Fig. 1a)은 개개의 종양세포들이 둥글고 균일하며, 과염색상 (hyperchromatic) 또는 진하게 얼룩진 (densely speckled) 핵을 가지고 있었다. 유사분열은 빈번하지 않고 rosette형과 원섬유성(fibrillary) 또는 포말성 (bubbly)의 세포간 간질 (matrix)물질이 보였다. 분화가 될수록 rosette형성과 분명한 섬유혈관성 격막이 관찰되었다.

유잉육종 (Fig. 2a)는 미만성 성장양상을 보이면서 투명하고, 적은 세포질을 가진 소원형 세포로 보였다. 드물게 작은 Homer-Wright rosettes와 위골형성이 관찰되었다.

배아성 횡문근육종 (Fig. 3a)은 전반적으로 소원형세포들로 나타났으며, 부분적으로 점액양, 또는 세포충실도가 떨어지는 부위가 관찰되었다.

소세포 암종 (Fig. 4a)은 둥근 핵과 중심에 위치된 중간정도 크기의 핵소체를 가진 단일 소 난원형 세포들의 소 (nests) 및 판상으로 관찰되었으며, 종양 세포의 소 주위에 현저한 기질반응 (stromal reaction)이 보였다.

2. 면역조직화학적 소견

신경모세포종 10예에서 synaptophysin (Fig. 1b)에 양성을 보였고, 유잉육종 (Fig. 2b)에서는 20예 중 18예에서 HBA-71에 양성반응을 보였으나, 다른 소원형세포 종양에서는 음성반응을 보였다. 배아성 횡문근육종 10예 (Fig. 3b)에서 desmin에 양성, 소세포 암종 12예에서 keratin에 (Fig. 4b) 양성을 보였다.

3. 전자현미경적 소견(Table 3)

신경모세포종은 축삭돌기가 관찰되었고, 이 돌기내에서는 미소관 (microtubules) 또는 신경세사 (neural filaments)가 관찰되었다. 또한 진한 중심과립 (dense core granule)이 주로 불완전하게 발육된 신경돌기와 유사하게 생긴 세포돌기에서 보였다. 핵은 매우 규칙적이고 미세한 염색질 양상과 현저한 핵소체가 보였는데, 분화가 잘 될수록 축삭돌기가 관찰되었다 (Fig. 5).

유잉육종은 세포들이 밀접하게 병렬되었으며 미발달된 세포접합이 신경모세포종에서와 같은 소견을 보였고, 핵은 대부분 원형 (Fig. 6a)과 난원형 (Fig. 6b)이었는데, 소수에서 불규칙한 양상을 보였

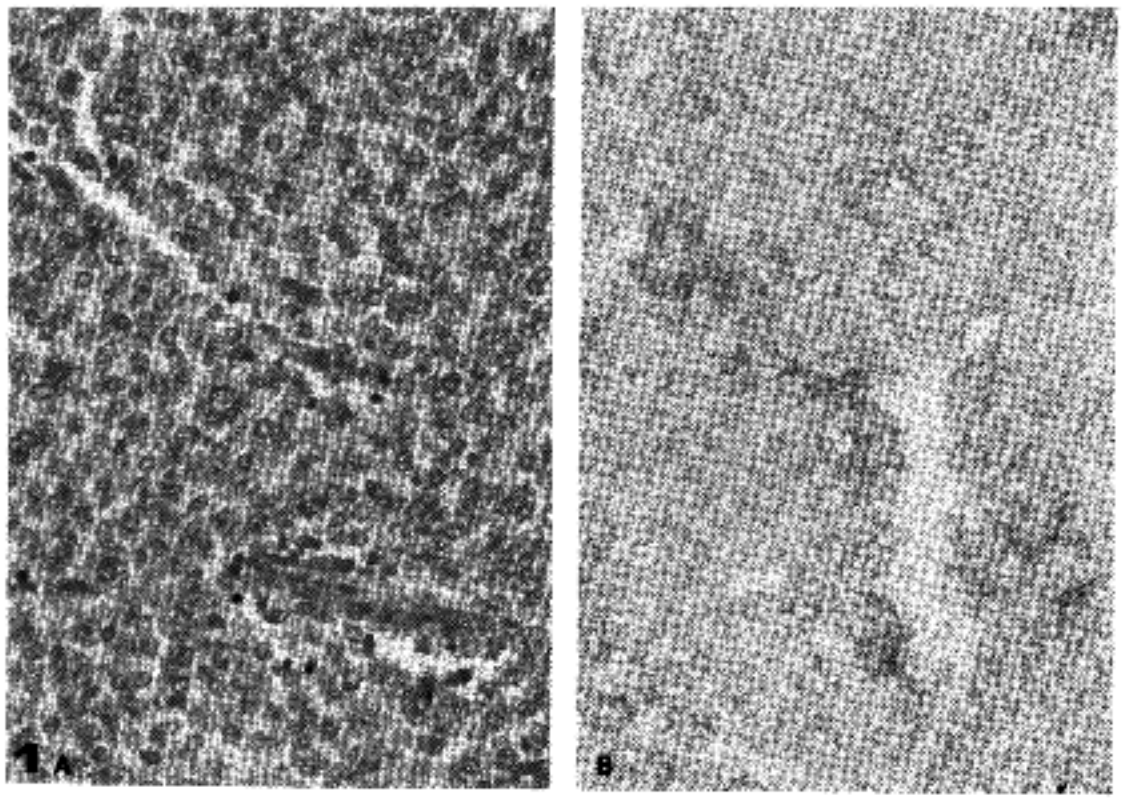


Fig. 1. A: Neuroblastoma is composed of compact nests of uniform cells with hyperchromatic nuclei in the fibrillary matrix but no nucleoli. B: Neuroblastoma cells are positive for synaptophysin in the cytoplasm.

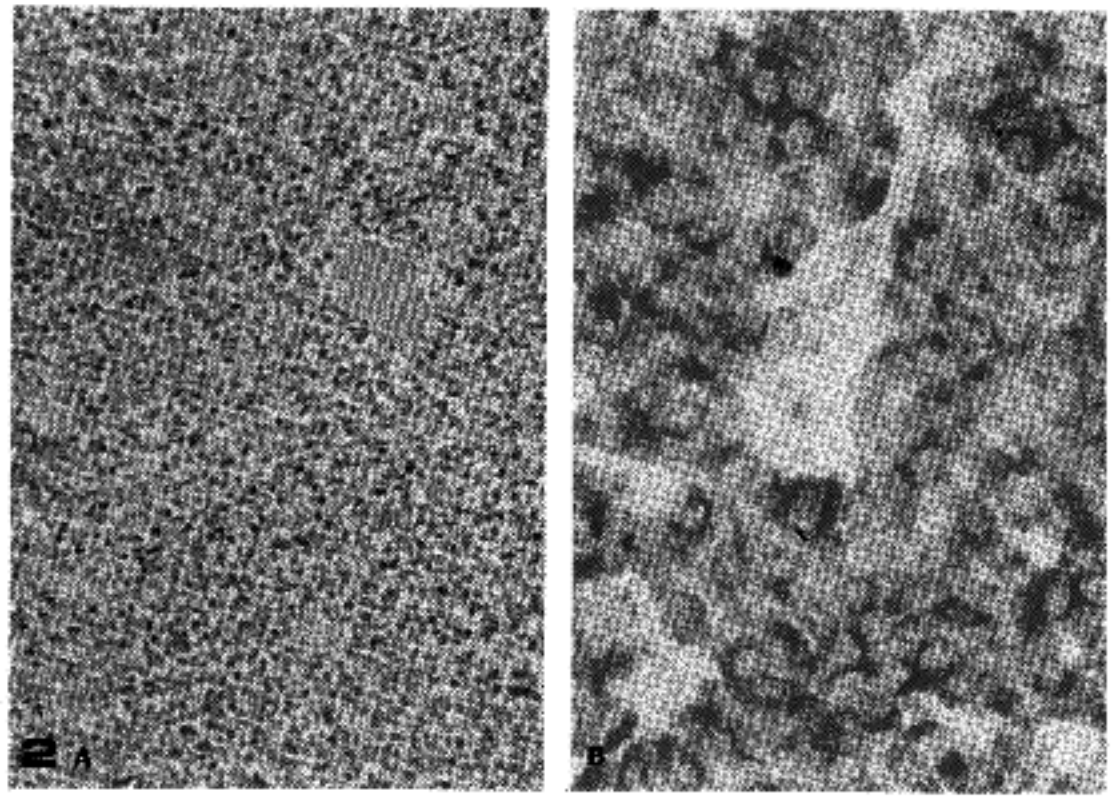


Fig. 2. A: Ewing's tumor shows small round cells with clear and scanty cytoplasm distributed in a diffuse growth pattern. B: Ewing's tumor cells are positive for HBA-71 in the cytoplasm.

다 (Fig. 6c). 대부분 glycogen이 풍부하게 나타났으며, 드물게 신경분화의 소견, 즉, 축삭돌기와 이 돌기내 신경내분비 과립이 관찰되었다 (Fig. 6d).

배아성 횡문근육종은 actin-myosin 다발들이 보였으며, 분화가 잘 될수록 Z-band 불실 및 외측 판 (external lamina)이 관찰되었다 (Fig. 7).

소세포 암종은 대부분 작은 핵소체를 가진 난원형핵을 보이고 있었으나, 일부에선 불규칙한 형태

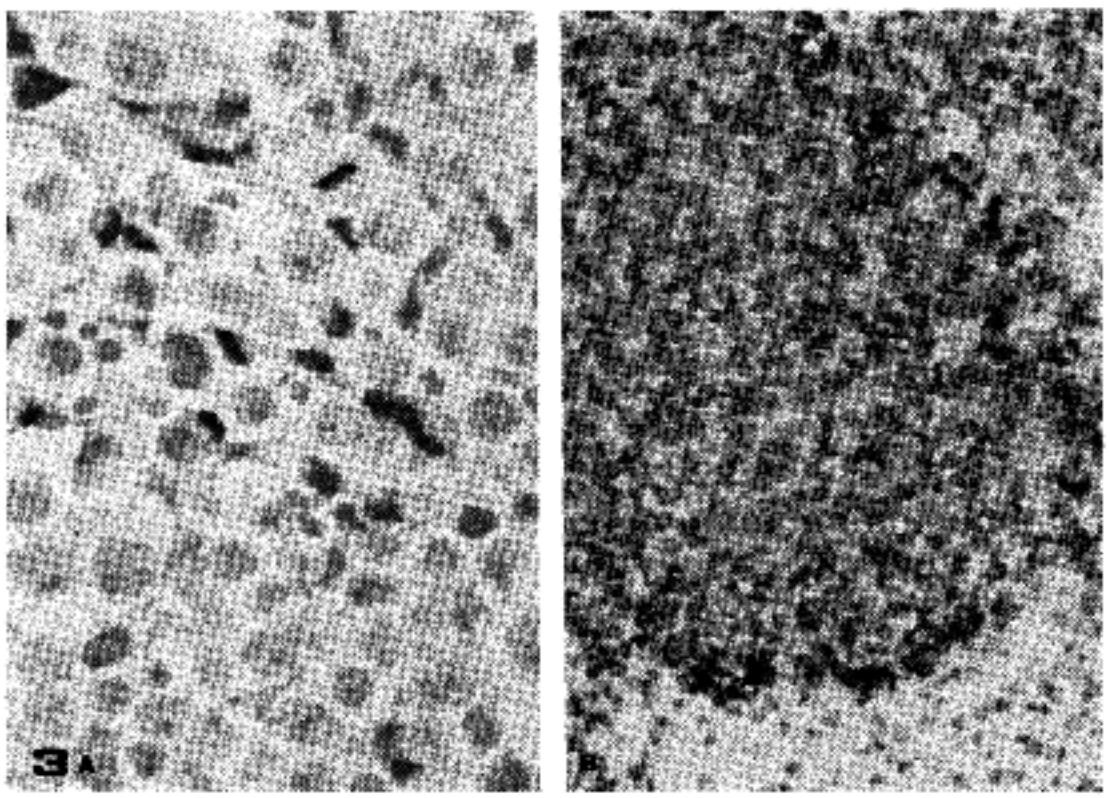


Fig. 3. A: Embryonal rhabdomyosarcoma shows small round cells admixed with spindle cells in myxoid stroma. B: Embryonal rhabdomyosarcoma cells are positive for desmin in the cytoplasm.

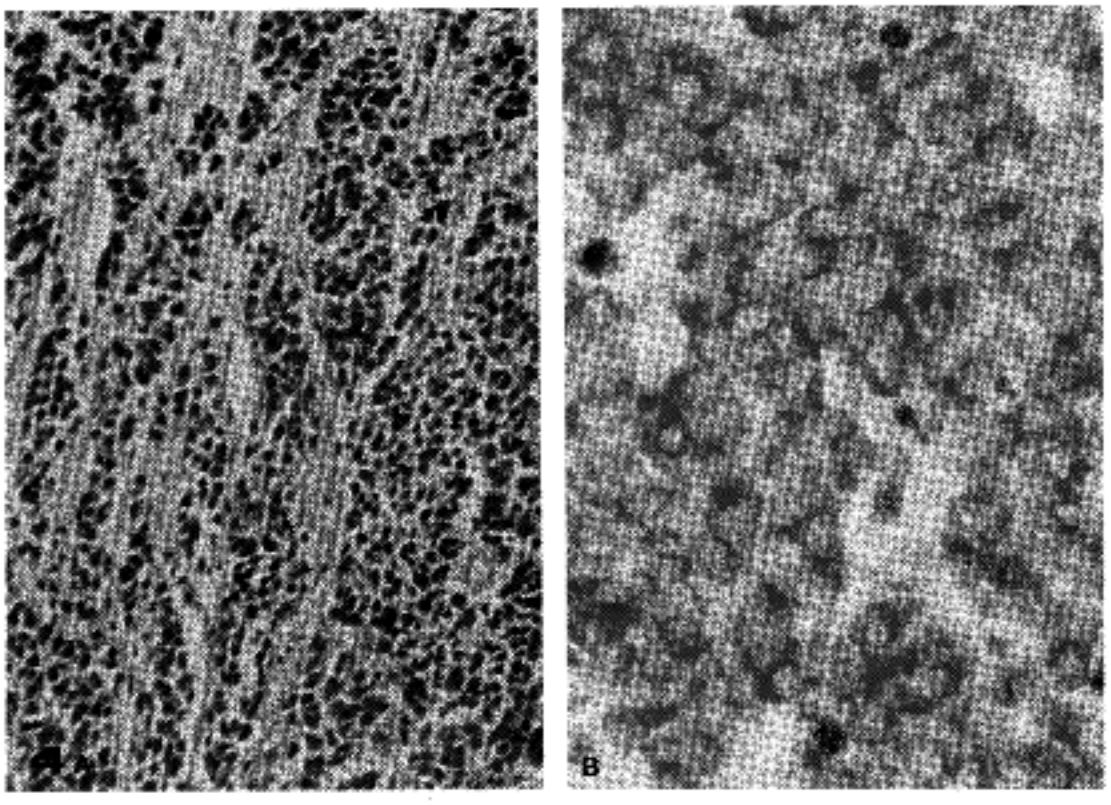


Fig. 4. A: Small cell carcinoma shows nests and sheets of uniform small ovoid cells with round nuclei and scanty cytoplasm. B: Small cell carcinoma cells are positive for keratin in the cytoplasm.

의 단일 소세포들로 구성되었고, 세포들은 비교적 적은 세포질을 갖으며, 세포돌기는 보이지 않았고, 서로 중등도로 잘 형성된 세포간 접합으로 연결되었다. 또한, 종양세포들과 기질사이에는 기저판이 관찰되었다 (Fig. 8).

Table 3. Characteristic ultrastructural features of small round cell tumors

	Ewing's tumor	Neuroblastoma		Rhabdomyosarcoma		Small cell carcinoma
		Primit.	Diff.	Primit.	Diff.	
Glycogen	usual	absent	absent	occasional	occasional	occasional
Dense core granule	occasional	rare	frequent	not	not	present
Microtubule	occasional	disorganized	organized	not	not	rare
Cell attachments (not desmosomes)	present	frequent	frequent	readily detectable	inconspicuous	present
Basal lamina	never present	never present	present	generally absent	present	present
Collagenous stroma	occasional	septae	present	diffuse around cell clusters	inconspicuous	present
Nuclear chromatin pattern	FNC	FNC	FNC	FNC	FNC	hyper chromatin

Primit. : Primitive, Diff. : Differentiated, FNC : Fine nuclear chromatin

고 찰

소원형세포 종양은 신경모세포 기원인 신경모세포종, 원시 골격근 기원인 횡문근육종, 상피세포가 기원인 소세포 암종 또는 림프계 세포가 기원인 림프종과, 아직까지 조직발생에 대해서 논란이 계속되고 있는 유잉육종이 포함되어 있다.

최근엔 세포유전학적 연구의 발달로 인해서 염색체 11, 22에 상호전위 (reciprocal translocation)가 발견되어서 감별진단과 조직발생에 대해서 활발히 논의되고 있었다. 이러한 염색체 변조는 유잉육종이외의 신경모세포종, 횡문근육종, 림프종 그리고 소세포 암종에서는 발견되지 않았다.[5,6]

광학현미경상 신경모세포종은 다양하고 현저한 호산성의 원섬유성 간질내에 부분적 또는 전체적으로 작고, 균일한 원형 세포로 구성되었고, 분화가 될수록 신경모세포 성숙의 하나인 신경절 세포 또는 신경원 (neuron)을 닮은 세포가 관찰되며, Homer-Wright rosettes도 관찰된다.[7~10]

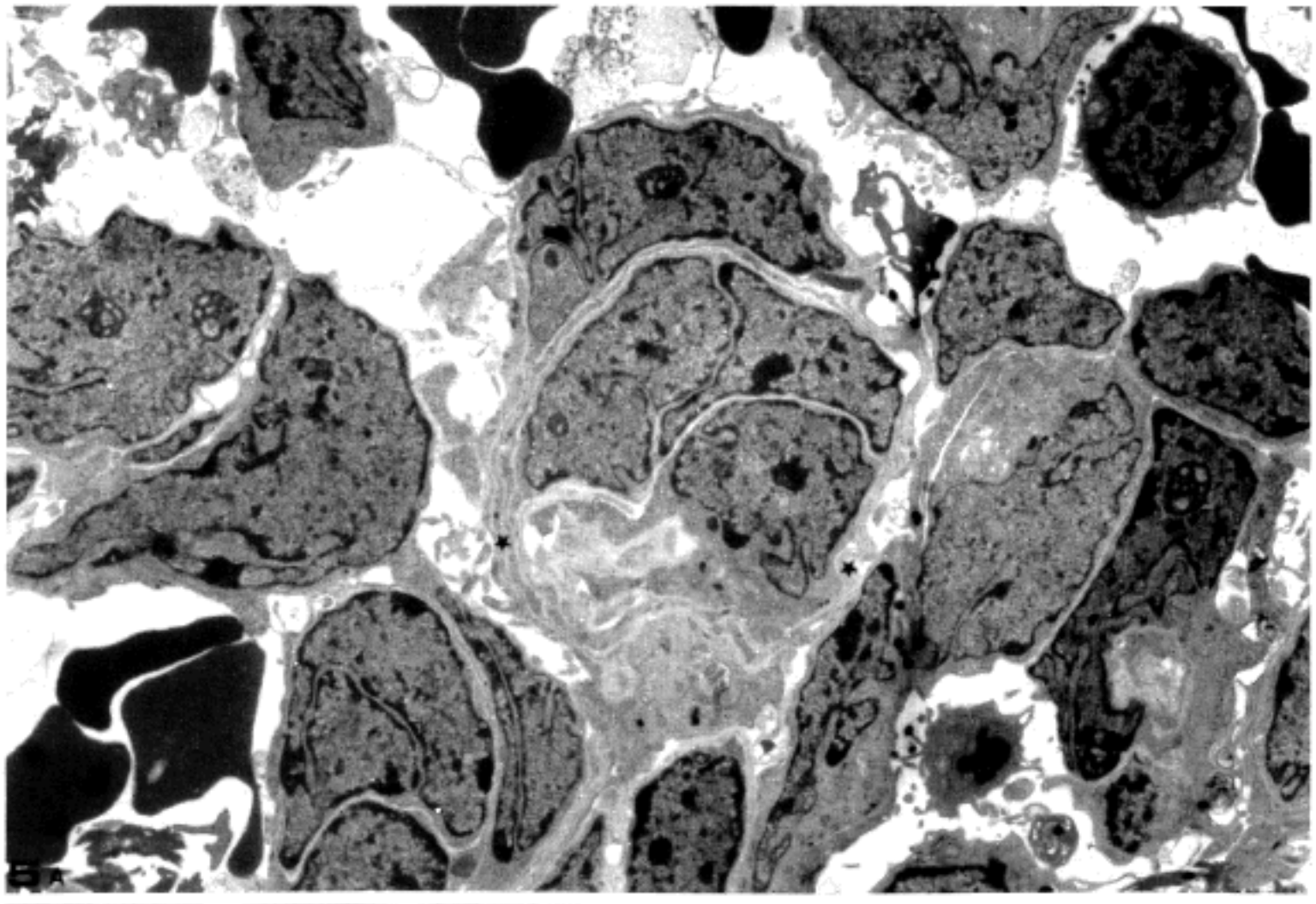
유잉육종은 중등도의 비교적 작고, 둥근핵을 가진 밀집된 종양세포들로 구성되었다. 유사분열은 비교적 중등도 (3~20/10HPF)이며, 핵의 염색질 양상은 비교적 섬세한 분포를 나타내며, 핵소체는 현저하지 않고, 모세혈관이 풍부하게 관찰되며, 때에 따라서는 드물게 rosette 형성이 관찰된다.[2,11~13]

본 예에서도 신경모세포종에서는 호산성의 원섬유성 간질이 풍부하였고, 분화가 잘 될수록 신경절 세포를 닮은 세포가 보였으며, 특히 유잉육종에선 미만성 성장양상을 보여 비슷한 소견을 보였다.

배아성 횡문근육종은 원형세포로 구성된 성긴 방추상 세포의 종양인데, 세포들은 작고, 난원 또는 원형의 핵을 갖으며, 뚜렷하지 않은 핵소체를 지니고 있다. 공격적인 종양일수록 국소성 또는 미만성의 과세포성 부위를 보이며 밀접하게 병치(appose)된 원형세포로 구성되어 있으며, 유사분열도 증가한다고 알려져 있으며,[14,15] 이는 본 연구에서도 비슷한 소견을 보였다.

Dehner[2,16]는 소세포종양의 면역조직화학적 연구 중 신경모세포종에서 신경모세포와 원섬유성 망상구조 (fibrillary network)는 신경 표지자인 NSE와 Neurofilament 그리고 S-100 protein에 양성반응을 보인다하였는데, 본 연구에서 NSE에는 양성을 보였으나, Neurofilament나 S-100 protein에는 음성반응을 보였다. 그러나 최근에 신경 표지자로 많이 이용된 synaptophysin에 대하여 신경모세포종에서는 양성반응을 보였고, 유잉육종의 일부에서는 양성, 그리고 소세포 암종중 신경내분비 암종 (neuroendocrine carcinoma)에서는 cytokeratin과 함께 양성반응을 보였다.

Synaptophysin[17~19]은 소 신경세포 (bovine neuron)의



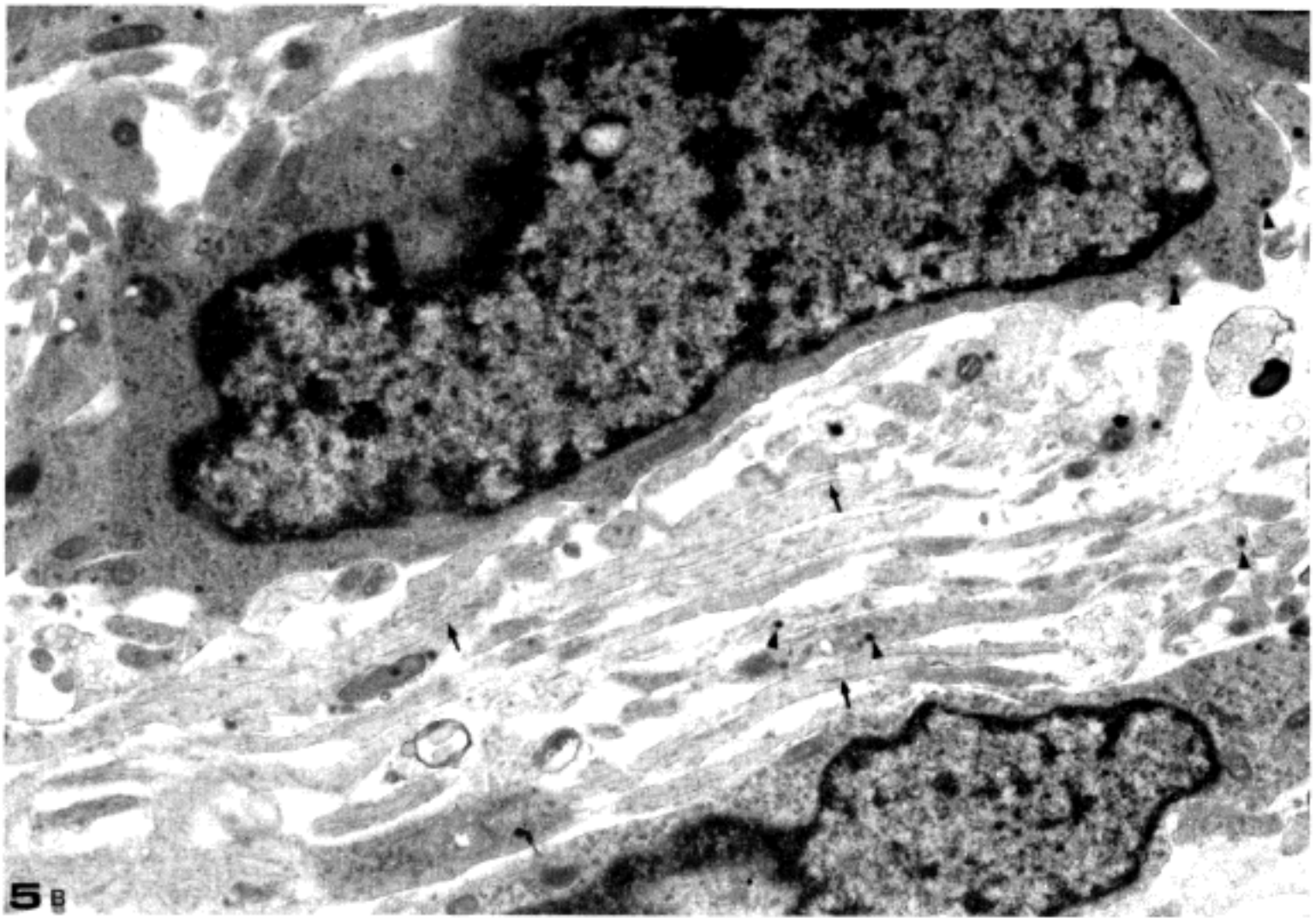
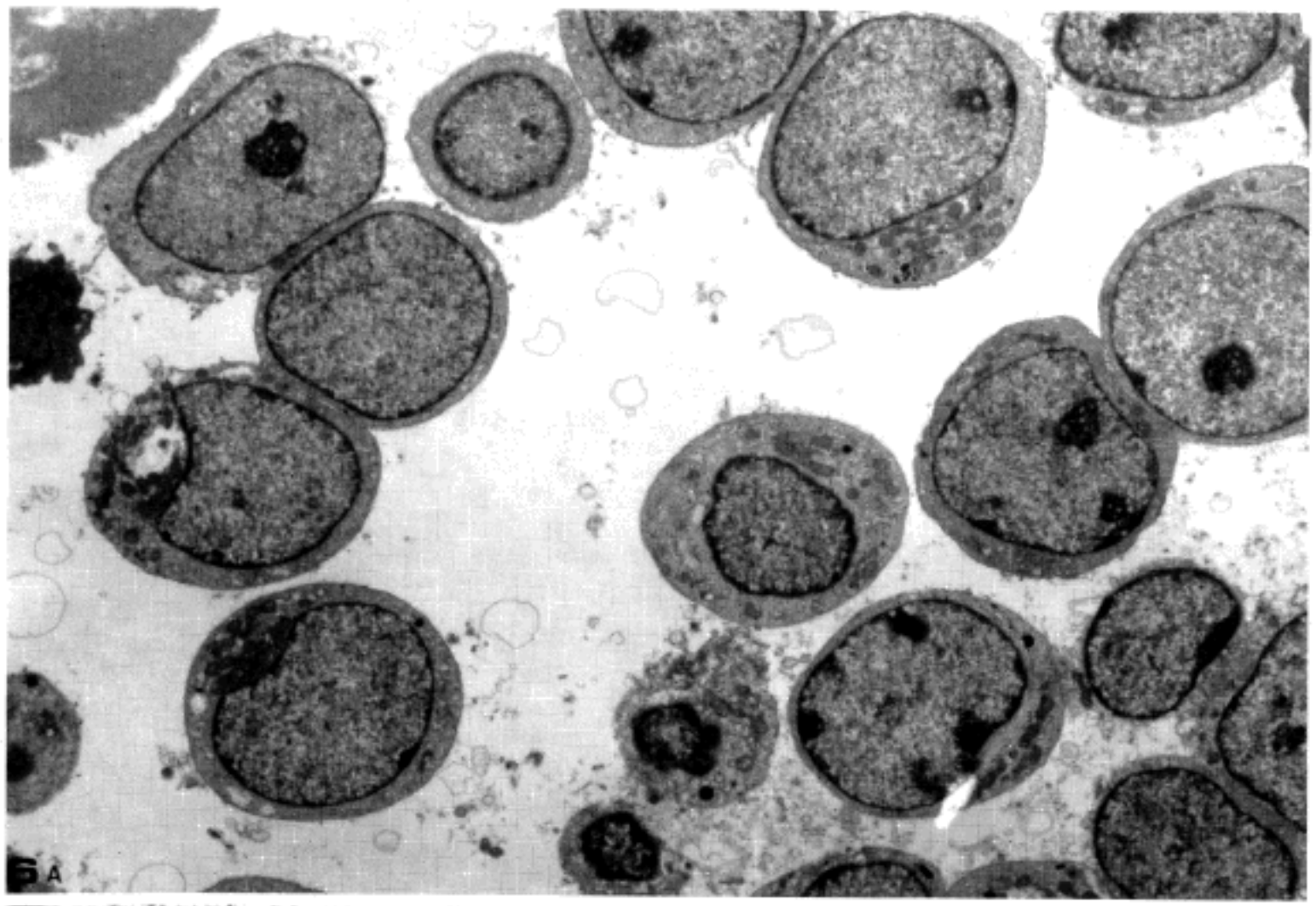


Fig. 5. Electron micrographs of neuroblastoma have cytoplasmic neuritic processes(asterisks) containing many microtubules(arrows) and dense core secretory granules(arrow heads). The nuclei are relatively irregular to oval, having relatively fine chromatin(A: x 2,000 B: x 4,000).



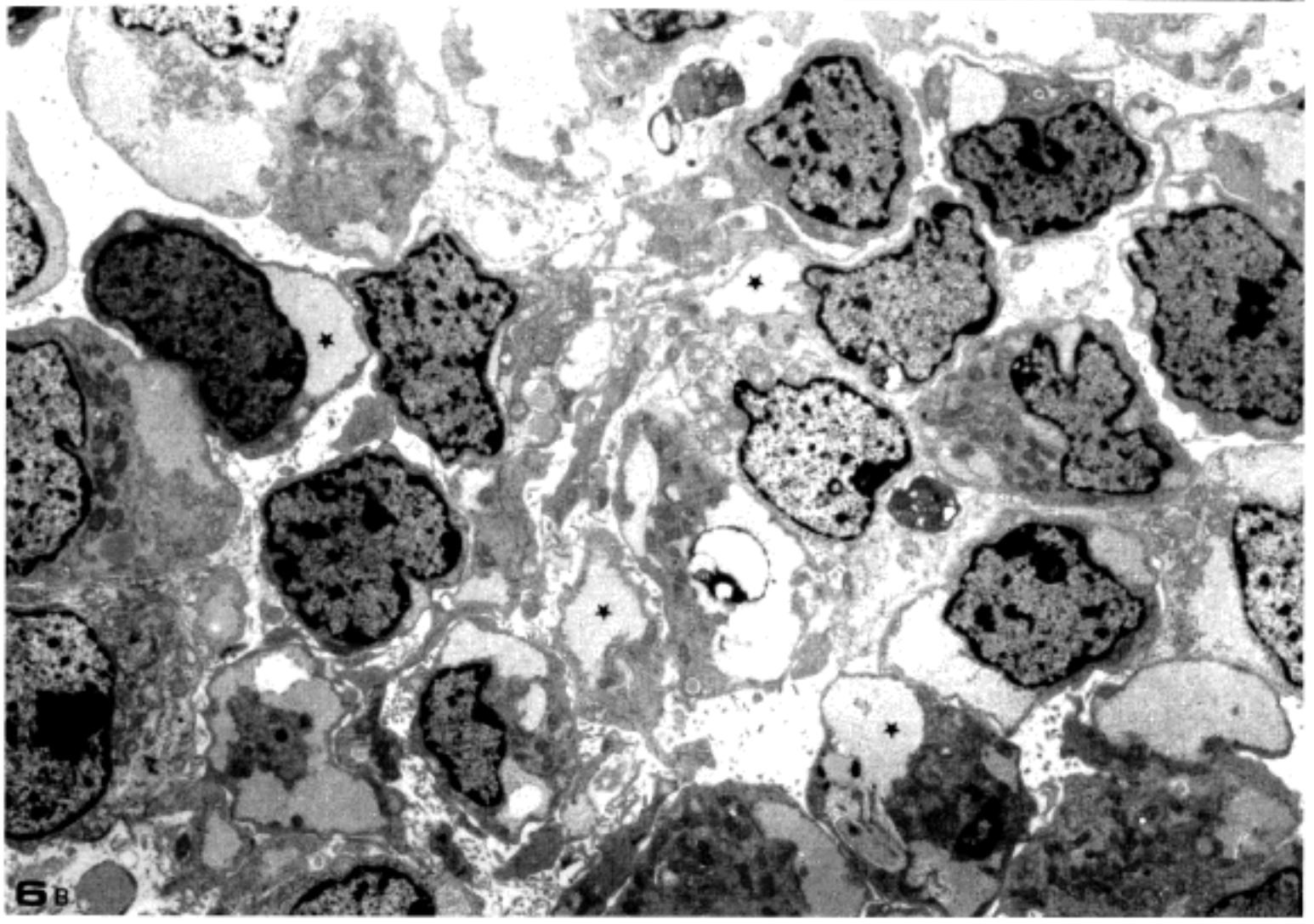


Fig. 6. Electron micrographs of Ewing's tumor are composed of small, round or polygonal cells. Clear areas (asterisks) of the cytoplasm correspond to glycogen pools. The nuclei are round to oval, having relatively fine chromatin. Note the dense core neurosecretory granules(arrows) in the cytoplasmic process. (a, b, c: x 2,000, d: x 4,000).

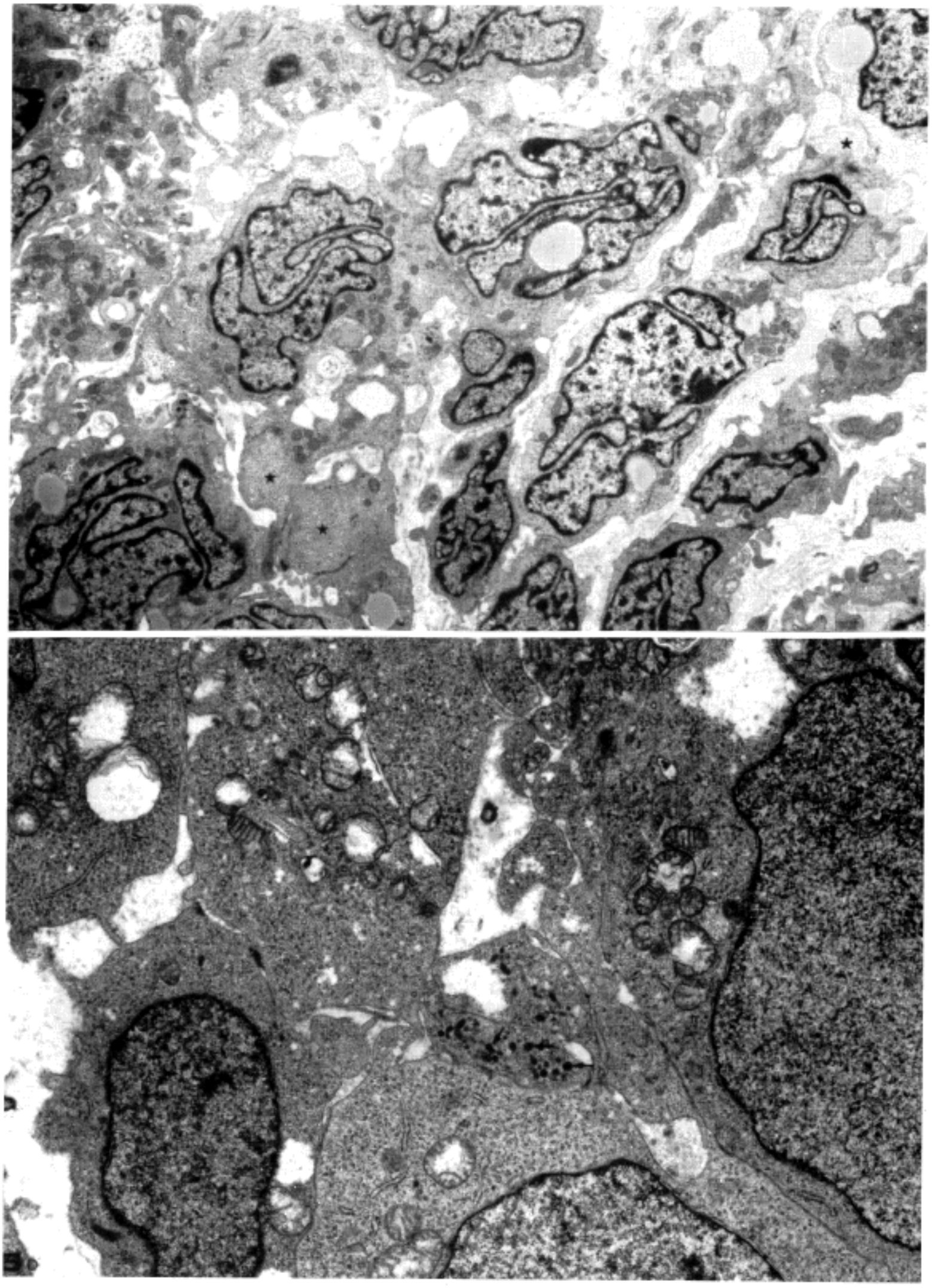


Fig. 6. Continued.

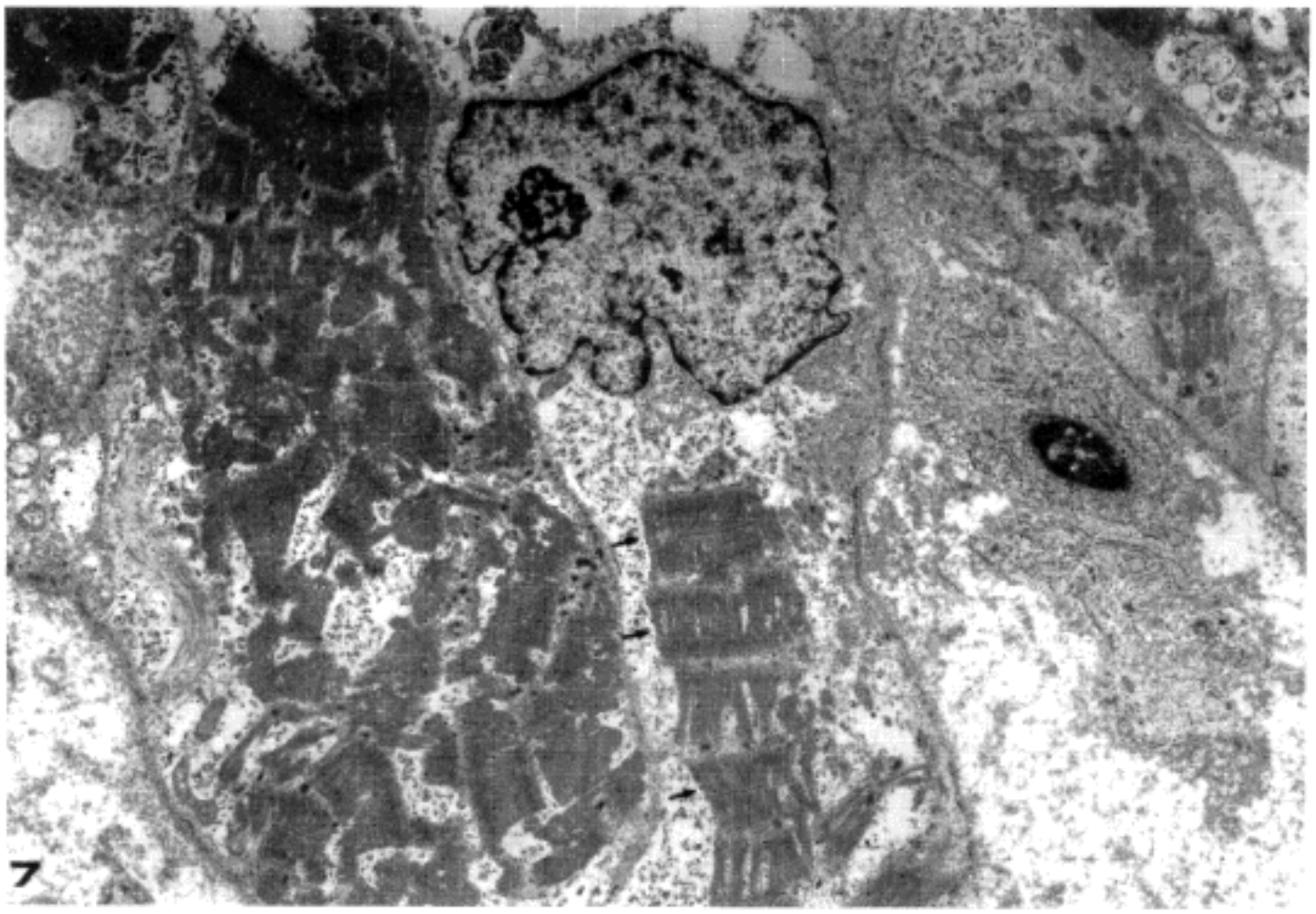


Fig. 7. Electron micrographs of embryonal rhabdomyosarcoma show relatively elongated or oval nuclei with fine chromatin. In the cytoplasm, actin-myosin bundles and Z bands(arrows) are noted(x 4,000).

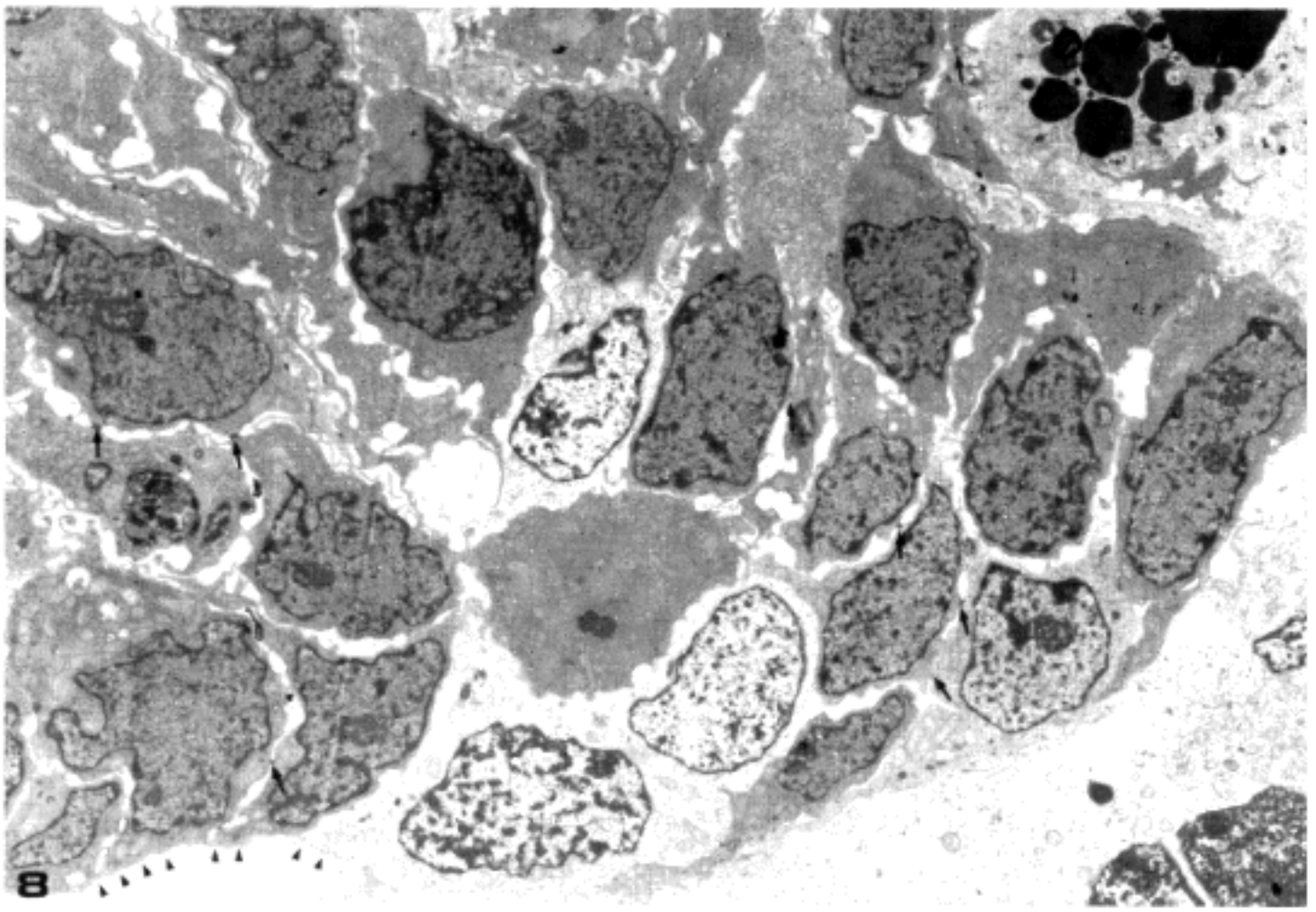


Fig. 8. Electron micrograph of small cell carcinoma shows basal lamina(arrow heads) between neoplastic nests and stroma and intercellular junctions(arrows). The nuclei are relatively irregular to oval having relatively dense chromatin (x 2,000).

전 시냅스성 소포 (presynaptic vesicle)에서 분리된 필수적인 막 당단백 (membrane glycoprotein)이다. Synaptophysin은 신경형 (neural type)의 신경내분비 종양인 모든 신경모세포종, 신경절모세포종 (ganglioneuroblastomas), 신경절신경종 (ganglioneuromas), 갈색세포종 (pheochromocytomas) 그리고 부신경절종 (paraganglioma)에서 신경세사 단백과 함께 양성반응을 보이며, 또한 상피형 (epithelial type)의 신경내분비종양인 신경내분비 암종에서 cytokeratin과 함께 양성반응을 나타낸다 하였다. 진한 중심신경분비 과립과 관련된 단백질군인 chromogranin은 신경원, 신경내분비 세포 그리고 그들의 종양에서 관찰된다고 알려져 있으나, synaptophysin이 chromogranin 보다 광범위하게 양성반응을 보인다 하였다.[20]

Desmin은 근원 (myogenous) 분화의 표지자로 기본적으로 이용되며, 분화가 안된 횡문근육종의 진단을 위해서는 가장 믿을만한 면역조직화학적 표지자이다.[14] 본 예에서도 배아성 횡문근육종 10예 전부에서 양성반응을 보였다.

X 그리고 Y 염색체의 pseudo-autosomal region내 MIC^2 gene에 의해서 암호화된 표면 당단백 (surface glycoprotein)인 HBA-71 단클론항체는 세포부착 과립에 관여되며 상의세포 (ependymal cell) 그리고 내분비세포에서 양성반응을 보이며, 유잉육종의 98%에서 강하게 양성반응을 보인다 하였으나, 신경모세포종이나 다른 종양들에서는 반응을 보이지 않는다고 알려져 있다.[21~23] 본 연구에서는 유잉육종 20예중 18예에서 양성반응을 보였으며, 다른 소원형세포 종양에서 음성반응을 보여 HBA-71은 유잉육종의 진단에 가장 중요한 면역조직화학적 표지자로 생각된다. 이와같은 현상은 단클론 항체 HBA-71이 MIC2 유전자에 의해 암호화된 세포표면 당단백 $p30/32^{MIC2}$를 인지하는데, MIC2유전자는 t(11:22)염색체의 존재여부와 일치하여 발현되기 때문에 면역조직화학적으로 HBA-71의 양성발현은 결과적으로 t(11:22)의 존재를 시사해 준다.[24] 염색체 11, 22의 상호 전위는 Ewing's tumor와 밀접한 관련성이 있으나, 신경모세포종, 횡문근육종, 림프종 및 소세포암종에서는 발견되지 않기 때문에[5,6] HBA-71의 발현유무가 Ewing's tumor의 진단에 특이도와 민감도를 동시에 갖는 것으로 여겨진다.

Cytokeratin은 주로 소세포 암종에서 양성반응을 보이는 표지자이다.[2] 본 연구에서도 주로 소세포 암종 그리고 극히 일부의 유잉육종에서 양성반응을 보였다. 그러나 소세포 암종에서는 HBA-71에 음성반응을 보여 구분된다.

소원형세포 종양은 전자현미경적 진단이 매우 중요한데, 신경모세포종은 특히 세사와 미소관이 관찰되나, 일반적으로 드물며, 보통 축삭돌기가 상호공존한다. 미발달된 세포접합은 많은 유형의 육종과 신경모세포종, 그리고 유잉육종에서 관찰된다.

기저판 (Basal lamina)은 신경모세포종에서 신경모세포가 신경절세포로 분화하면 관찰되지만 림프계 조직에서는 전혀 나타나지 않는다. 신경모세포종에서의 특징중 하나는 진한 중심과립인데, 이는 그 형태와 크기가 일차 리소좀 과립과 초미세 형태학적으로 매우 비슷할 수 있다. 신경분비과립이 일반적으로 변연부에 위치하고 빈번히 발육부전의 신경돌기와 닮은 세포돌기에서도 발견된다.

잘 분화된 신경모세포종일수록 종양세포들의 상피양 집괴가 존재한다. 종양세포들의 이러한 집괴들은 그들집괴의 중심부 (구심점)를 향하여 발육부전상태의 신경돌기를 내 보이며, 이 돌기내에서 신경세관 (neural tubules) 또는 신경세사의 존재는 신경모세포종의 진단에 지침이 된다. 때때로 세포질내에서 glycogen을 볼 수 있으나, 일반적으로 많은 양의 glycogen은 신경모세포종 보다 유잉육종에서 많이 관찰할 수 있다.[1,2] 본 연구에서도 분화가 좋을수록 축삭돌기, 신경분비 과립, 미소관이 잘 관찰되었다. 그러나 glycogen이 풍부한 신경모세포종은 찾아볼 수 없었다.

유잉육종에선 세포들이 원형 또는 난원형이며, 핵도 원형 그리고 난원형의 형태를 취하나, 드물게 불규칙한 양상을 보이며, 핵소체는 뚜렷하지 못하다. 세포질내 세사는 볼 수 없는데, 극히 드문 예에서 길어지거나 서로 교차되는 세포돌기내에 세사와 미소관, 그리고 신경분비과립이 관찰된다.[2,25] 본 연구에서는 대부분의 유잉육종에서 glycogen이 매우 풍부하였으며, 2 예에서 세포 돌기내에서 신경분비 과립이 관찰되었다.

횡문근 육종의 전자현미경적 진단에서 육각형 배열내에 두껍고 (15 nm) 얇은 (6 nm) 사상체, 두꺼운 사상체를 따라서 ribosomes의 일렬종대 배열 (indian file), ribosome-myosin 복합체 그리고 Z band를 동반한 잘 발달된 근절 (sarcomere)이 관찰되며, 방추형 밀도의 유무에 관계없이 가는 사상체의 집약, 뭉쳐진 근섬유의 진한 덩어리들, 기저층, 잘 발달된 형질내세망 (endoplasmic reticulum), glycogen 그리고 세포 흡수형 소포들이 나타난다. 원시형

의 횡문근육종에서 일반적으로 actin-mycsin 다발, Z-band 물질 그리고 외측 판 (external lamina)가 잘 관찰되지 않으나, 7 nm 그리고 10 nm의 세포질 세사의 존재가 관찰된다하였다. 그러나 신경모세포종, 림프종, 그리고 유잉육종에서는 관찰되지 않는다 하였다.[1] 본 연구에서는 비교적 분화가 안 좋은 횡문근육종에서는 actin-myosin 다발이 세포질내에서 관찰되었으나 외측 판은 관찰되지 않았다. 그러나 분화가 좋은 횡문근육종에서는 actin-myosin 다발, Z- band 물질과 외측 판이 관찰되었다.

소세포 암종에서는 종양세포들이 특히 기저판에 의해서 피복되며, 서로 중등도로 형성된 세포간 접합 (intercellular junctions)에 의해서 연결되나, 세포돌기나 세포질내 미소관은 관찰 되지 않는다고 알려져 있는데,[26~28] 본 예에서도 중등도로 형성된 세포간 연접과 기저층이 기질과 종양 세포 사이에 관찰되었다.

소원형세포 종양중 조직의 기원에 대해선 소세포암종이나 횡문근육종은 상피세포 및 횡문근 조직기원으로 별 문제가 되지 않으나, 유잉육종에 대해선 아직도 논란이 아주 많다. 본 연구에서의 유잉육종은 HBA-71에 거의 대부분 양성이며 20예중 8예가 synaptophysin양성을 보였다. 전자현미경상 드물게 신경분화인 Homer-Wright rosettes 형성, 신경분비과립, 미소관, 원시 신경 돌기가 관찰되나 신경절 분화나 Schwann 세포분화는 보이지 않았다.

Cavazzana등[29]은 ES cell배양에서 cyclic AMP 또는 TPA 처치로 인해 신경분화를 관찰할 수 있다고 보고하였다. Rettig[30]는 그의 실험에서 HBA-71 세포 표면항원은 신경조직에서는 나타나지않았으며, 배양된 ES cell에서 HBA-71$^+$/NCAM$^-$/Thy-1$^-$이 정상 신경 (neural), 간엽 (mesenchymal) 또는 다른 조직에서도 발현되지 않음을 관찰하였다. 그러나 인체 태생학적 조직에서 신경외배엽성과 간엽성 분화의 초기의 세포들에 대하여 HBA-71, NCAM 그리고 Thy-1에 대한 면역조직화학적 검색은 하지 않았고, 상기한 실험소견과 유잉육종이 불완전한 신경분화를 보이는 소견을 종합하여 유잉육종이 실험 신경외배엽 기원의 역형성 (anaplastic)의 간세포 (stem cell) 종양이라고 주장하였다.

본 예에서도 신경 분화의 소견이 관찰되어 위 사실을 입증해 주며 원시 신경외배엽성 종양 (PNET)과 그 맥을 같이한다 하겠으나, 세포부착과정에 관여하는 HBA-71에 대한 특이한 양성반응은 조직기원에 대한 많은 논란의 여지는 남겨두고 있다.

Kissel등[31]은 신경모세포종은 신경릉 (neural crest) 기원의 원시세포에서 발생한다고 생각하였고, 예상되는 간 (stem)세포인 sympathogon은 교감신경아 세포로 분화하고, 코롬친 화성 또는 비크롬친화성 방신경절세포의 계열로 더 분화한다고 보고하였다. 본 예에서 신경 표지자인 synaptophysin에 신경모세포종이 양성반응이고, 신경절분화를 보이며 전자현미경 소견상 신경 돌기, 미소관, 신경분비 과립등의 존재는 위 사실을 입증한다 하겠다.

결 론

소원형 세포 종양인 신경모세포종, 배아성 횡문근육종, 유잉육종 그리고 소세포 암종을 대상으로 전자현미경적 검색과 면역조직화학적 염색을 이용하여 개개의 소원형세포 종양들을 감별평가 할 때, 각 종양의 면역조직화학적 염색의 특이성과 초미세구조의 차이점, 그리고 유잉육종의 조직기원을 추구하는데 목적을 두어 본 실험을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 면역조직화학적 염색에서 유잉육종의 20예중 18예에서 HBA-71에 양성을 보였으나, 다른 소원형 세포종양에서는 음성반응을 보였다. 신경모세포종은 synaptophysin에, 횡문근육종은 desmin에, 소세포 암종은 keratin에 양성 반응을 보였다. 신경내분비 기원의 소세포 암종은 keratin과 synaptophysin에 양성 반응을 보였다.

2) 전자현미경 소견에서 신경모세포종은 축삭돌기, 미소관, 신경분비 과립이 특징적 소견을 보였으며, 유잉육종은 세포질내 glycogen양은 다양하나 대부분 풍부하게 관찰되었다. 드물게 미미한 신경내분비 과립과 미소관이 보였다.

3) 배아성 횡문근육종은 actin-myosin 다발이 보였으며, 분화가 잘될수록 Z-band 물질과 외측 판이 보였고, 소세포 암종에선 종양세포들과 기질 사이에 기저층과 빈약하게 혹은 중등도로 형성된 세포간 접합이 관찰되었다.

4) 유잉육종과 신경모세포종에 대한 조직기원은 신경모세포종은 광학 및 면역조직화학 그리고 전자현미경적 연구에서 신경 분화를 확인할 수 있어 신경외배엽 기원의 원시세포에서, 유잉육종은 드물게 신경분비 과립과 미소관의 존재로 신경외배엽 기원의 간세포 (stem cell)에서 기원한 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Triche TJ, Askin FB. Neuroblastoma and the differential diagnosis of small-, round-, blue-cell tumors. Hum Pathol 1983; 14: 569-95.
2. Dehner LP. Primitive neuroectodermal tumor and Ewing's sarcoma. Am J Surg Pathol 1993; 17: 1-13.
3. Millonig GA. Electron microscopy proc. 5th ed, Academic press. New York, 1962; 2: 8-9.
4. Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol 1963; 17: 208-16.
5. Turc-Carel C, Aurias A, Mugneret F. Chromosomes in Ewing's sarcoma I. An evaluation of 85 cases and remarkable consistency of +(11,22) (924:912). Cancer Genet Cytogenet 1988; 32: 229-38.
6. Whang-peng J, Triche TJ, Kuntsen T. Chromosome translocation in peripheral neuroepithelioma. N Engl J Med 1984; 311: 584-85.
7. Taxy JB. Electron microscopy in the diagnosis of neuroblastoma. Arch Pathol Lab Med 1980; 103: 355-67.
8. Romansky SG, Crocker DW, Shaw KNF. Ultrastructural studies on neuroblastoma : evaluation of cytodifferentiation and correlation of morphology and biochemical and survival data. Cancer 1978; 42: 2392-402.
9. Adam A, Hochholzer L. Ganglioneuroblastoma of the posterior mediastinum : a clinicopathologic review of 80 cases. Cancer 1981; 47: 373-86.
10. Bove KE, McAdams AJ. Composite ganglioneuroblastoma: An assessment of the significance of histological maturation in neuroblastoma diagnosed beyond infancy. Arch Pathol Lab Med 1981; 103: 325-35.
11. Llombart-Bosch A, Blache R, Peydro-olaya A. Ultrastructural study of 28 cases of Ewing's sarcoma: Typical and atypical forms. Cancer 1978; 41: 1362-73.
12. Hasegawa T, Hirose T, Kudo E, Hizaqa K, Yamawaki S, Ishii S. Atypical primitive neuroectodermal tumors. Acta Pathol Japonica 1991; 41: 444-54.
13. Schmidt D, Herrmann C, Jurgens H, Harms D. Malignant peripheral neuroectodermal tumor and its necessary distinction from Ewing's sarcoma. A report from the Kiel pediatric tumor registry. Cancer 1991; 68: 2251-9.
14. Miettinen M,Rapola J. Immunohstochemical spectrum of rhabdomyosarcoma and rhabdomyosarcoma-like tumors : Expression of cytokeratin and 68-KD neurofilament protein. Am J Surg Pathol 1989; 13: 120-32.
15. Kodet R, Newton W Jr, Hamoudi AB, Asmar L. Rhabdomyosarcomas with intermediate-filament inclusions and features of rhabdoid tumors : Light microscopic and immunohistochemical study. Am J Surg Pathol 1991; 15: 257-67.
16. Dehner LP. Peripheral and central primitive neuroectodermal tumors. Arch Pathol Lab Med 1986; 110: 997-1005.
17. Wiedenmann B, Franke WW. Identification and localization of synaptophysin, and integral membrane glycoprotein of Mr 38,000 characteristic of presynaptic vesicles. Cell 1985; 45: 1017-28.
18. Ladanyl M, Heinemann S, Huvos AG, Rao PH, Chen Q, Jhanwar SC. Neural differentiation in small round cell tumors of the bone and soft tissue with the translocation t(11;22)-(q24;q12). An immunohistochemical study of 11 cases. Hum Pathol 1990; 21: 1245-51.
19. Pinto A, Grant LH, Hayes FA, Schell MJ, Parham DM. Immunohistochemical expression of neuron-specific enolase and Leu 7 in Ewing's sarcoma of bone. Cancer 1989; 64: 1266-73.
20. Gould VE, Lee I, Wiedenmann B, Moll R, Chejfec G, Franke WW. Synaptophysin: a novel marker for neurons, certain neuro-endocrine cells, and their neoplasms. Hum Pathol 1986; 17: 979-83.
21. Ambros IM, Ambros PF, Strehl S, Kovar H, Gadner H, Salzer-Kuntschik M. MIC2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors. Evidence for a common histogenesis of Ewing's sarcoma from MIC2 expression and specific chromosomal aberration. Cancer 1991; 67: 1886-93
22. Fellinger EJ, Garin-CHesa P. Glasser DB, Huvos AG, Rettig WJ. Comparison of cell surface antigen HBA-71 ($p30/32^{MG62}$), neuron-specific enolase, and vimentin in the immunohistochemical analysis of Ewing's sarcoma of bone. Am J Surg Pathol 1992; 16: 746-55.
23. Hamilton G, Mallinger R, Havel M. Ewing's sarcoma-associated HBA-71 tumor antigen represents a new differentiation marker of human thymocytes. J Cancer Res Clin Oncol 1969; 107-49.
24. Fellinger EJ, Garin-Chesa P, Triche TJ, Huvos AG, Rettig WJ. Immunohistochemical analysis of

Ewing's sarcoma cell surface antigen p30/32^{MIC2}. Am J Pathol 1991; 139: 317-25.

25. Mahoney JP, Alexander Rw. Ewing's sarcoma A light-and electron-microscopic study of 21 cases. Am J Surg Pathol 1978; 2: 283-98.
26. Gould VE, Dardi LE, Memoli VA, Johannessen JV. Neuroendocrine carcinomas of the skin : Ultrastructural and immunohistochemical analysis. Ultrastruct Pathol 1980; 1: 499-509.
27. Sidhu GS, Feiner H, Flotte TJ, Mullins JD, Schaefler K, Schultenover SJ. Merkel cell neoplasms : Histology, electron microscopy, biology and histogenesis. Am J Dermatopathol 1980; 2: 101-19.
28. Silva E, Mackay B. Neuroendocrine (Merkel cell) carcinoma of the skin : An ultrastructural study of nine cases. Ultrastruct Pathol 1981; 2: 1-9.
29. Cavazzana AO, Ninfo V, Roberts J, Triche TJ. Peripheral neuroepithelioma : a light microscopic, immunocytochemical, and ultrastructural study. Mod Pathol 1992; 5: 71-8.
30. Rettig Wj, Garin-Chesa P, Huvos AG. Ewing's sarcoma : new approaches to histogenesis and molecular plasticity. Lab Invest 1992; 66: 133-7.
31. Kissel P, Andre JM, Jacquier A. The Neurocristopathies. New York, Masson Publishing, USA, 1981; 43-62.