

흉선종의 병리학적 검색 및 bcl-2 단백질과 MIC-2 단백질 표현에 대한 면역조직화학적 연구

연세대학교 원주의과대학 병리학교실 및 의과대학 병리학교실*

양 경 무 · 조 미 연 · 홍 순 원
김 태 승* · 박 찬 일* · 양 우 익*

Histopathologic Re-evaluation of Thymoma with Immunohistochemical Study for bcl-2 and MIC-2 Protein

Kyung-Moo Yang, M.D., Mee-Yon Cho, M.D., Soon-Won Hong, M.D.
Tae-Seung Kim, M.D.*, Chanil Park, M.D.* and Woo-Ick Yang, M.D.*

Department of Pathology, Yonsei University Wonju College of
Medicine and Yonsei University College of Medicine*

We reviewed 86 thymic epithelial tumors and reclassified them according to the Kirchner and Müller-Hermelink classification. They were subtyped as medullary, mixed, predominantly cortical (organoid), cortical, well differentiated thymic carcinoma, and poorly differentiated thymic carcinoma. The frequency of each subtype was determined and histologic findings were related to stage and myasthenia gravis. Immunohistochemical stains for bcl-2 protein as a marker for medullary thymocytes and MIC-2 protein as a marker for cortical thymocytes were performed in each case. The stages and association of myasthenia gravis was significantly different in each subtypes. The results of this study demonstrate that this histogenetic classification is clinically applicable. The bcl-2 protein was specifically demonstrated in lymphocytes within areas of medullary differentiation and MIC-2 protein in cortical differentiation. The expression of bcl-2 and MIC-2 proteins lend histogenetic support for this new classification of thymoma. Bcl-2 protein is strongly expressed in tumor epithelial cells of every case of poorly differentiated thymic carcinoma whereas the other types of thymic epithelial tumors do not show epithelial expression of this protein. The strong expression of bcl-2 protein in tumor epithelium may be considered as a predictor of aggressive behavior in thymic epithelial tumors. (**Korean J Pathol 1997; 31: 446~461**)

Key Words: Classification of thymoma, bcl-2 protein, MIC-2 protein, Immunohistochemical stain

접 수: 1996년 11월 18일, 게재승인: 1997년 3월 10일
주 소: 서울시 서대문구 신촌동 134, 우편번호 120-752
연세대학교 의과대학 병리학교실, 양경무

*이 논문은 1994년 연세대학교 의과대학 과별 project 연구비 지원을 받았음.

서 론

흉선종의 조직학적 분류와 예후와의 상관관계를 알아보기 위해 많은 노력이 있어 왔지만 흉선종내 림프구 및 상피세포의 비율에 근거한 조직학적 분류는 일반적으로 예후와 상관관계가 없는 것으로 인식되었고 예후를 결정하는데 가장 중요한 것은 병기 및 치료방법으로 생각되어왔다¹. Marino와 Müller-Hermelink는 1985년에 흉선종을 정상 흉선의 피질과 수질내 상피세포와의 세포학적 유사성에 따라 피질형 흉선종과 수질형 흉선종으로 분류하고 피질형 흉선종이 수질형 흉선종보다 임상적으로 예후가 나쁘고 종종 근무력증과 동반이 잘된다는 것을 보고한 후² 이를 다시 수정 보완한 흉선종의 분류법에서는^{3,4} 흉선종을 medullary type(수질형), mixed type(혼합형), predominantly cortical(organoid) type(기관양 분화형), cortical type(피질형), well differentiated thymic carcinoma(고분화 흉선암종)와 poorly differentiated thymic carcinoma(미분화 흉선암종)로 세분하였다. 이 분류법을 뒷받침하는 이론적 근거들로는 형태학적 소견 외에 종양 상피세포의 면역조직화학적 표현형이 정상 상피의 표현형과는 일치하지 않지만 피질형과 수질형 흉선종내 림프구의 면역조직화학적 표현형은 각각 정상 흉선의 피질내 림프구와 수질내 림프구와 유사성이 있었다는 점과^{4,5} 미세흉선종이 발생 위치에 따라 정상 상피세포와 형태학적 유사성을 보였다는 점⁶, 조직학적 유형별로 PCNA 와 Ki-67 labelling index의 차이가 있었다는 점⁷, 유세포측정기를 이용한 DNA 분석 결과가 흉선종의 조직학적 유형에 따라 차이를 보였다는 점과^{8,9-11} 이 분류법이 임상적으로 상당히 유용하였다는 점 등을 들수있으며^{4,12-14} 실제로 독일 및 이탈리아 등 유럽과 미국의 일부기관에서는 이 분류법을 사용하고있다. 그러나 이 분류법을 적용하는데 있어서 문제점은 일부의 조직학적 유형에 대한 정의가 명확하지 않고 형태적 소견 외에 이 분류법을 뒷받침할 수 있는 근거가 미약하고^{2,4} 이 분류법이 과거에 사용하던 분류법에 비해 복잡하고 재현성이 떨어지며¹⁵, 임상적 의의도 분명하지 않다는 점이다^{1,16}. 이처럼 이 분류법에 관해 상반된 견해가 존재하는 중요한 원인들로는 면역염색을 이용한 지금까지의 연구의 대부분은 형태학적 소견을 파악하기 힘든 동결절편조직을 이용하였다는 점과 세분된 분류법을 정확히 적용시킨 연구가 드물다는 것이다^{2,5}. 흉선종이 악성 림프종처럼 조직학적

유형별 발생빈도가 동양과 서양사이에 차이가 있다는 최근의 보고가 있었고¹⁷, 우리나라에서도 이 분류법의 임상적인 유용성을 검증한 보고는¹⁸ 있었으나 체계적인 분류방법을 사용한 보고는 없었다. 따라서 본 연구에서는 흉선종으로 진단된 예들을 Kirchner와 Müller-Hermelink등이 발표한 분류법으로 재분류하고 이를 병기와 종종 근무력증의 동반 여부와 비교함으로써 이 분류법의 임상적 의의를 재분석하고자 하였다. 또한 정상 흉선에서 피질의 림프구는 MIC-2단백을 표현하나^{19,20} bcl-2단백은 표현하지 않고, 이와 반대로 수질의 림프구는 MIC-2 단백질은 표현하지 않으나 bcl-2단백은 표현하는 점과 이들 항체가 파라핀 포매조직에서도 사용이 가능하다는 점에 근거하여 흉선종에서 림프구의 MIC-2 단백질과 bcl-2 단백질 표현을 분석하고 정상 표현 양상과 비교하여 Kirchner와 Müller-Hermelink가 발표한 분류법의 이론적 근거를 검색하고자 하였다. 그리고 bcl-2 단백질 상피세포 기원의 종양에서도 표현된다는 최근의 보고들²¹⁻²⁴ 미루어 각 유형에 따른 흉선종내 상피세포의 bcl-2 단백질의 표현 양상도 아울러 살펴보고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1985년부터 1996년도 사이에 연세대학교 의과대학 및 원주의과대학 병리학 교실에서 흉선종으로 확진되고 임상기록 및 수술 소견의 검색이 가능하며 파라핀 블록의 보존 상태가 양호하고 피사가 적어 면역조직화학 염색을 시행할 수 있는 86예를 대상으로 하였다.

2. 임상 정보

임상 정보는 환자의 임상기록을 검토하여 주변장기의 침범 여부 등 수술 당시의 소견과 종종근무력증의 동반여부를 검색 하였다.

3. 병기

수술 및 조직학적 소견을 종합한 Masaoka의 분류법을²⁵ 따랐다(Table 1).

4. 조직학적 재분류

통상적인 제작과정을 거치고 hematoxylin-eosin 염색된 슬라이드를 광학 현미경으로 관찰하여 Kirchner와 Müller-Hermelink의 분류법을 기초로 하여 두명의

Table 1. Criteria of stages

Stage I	Macroscopically completely encapsulated and microscopically no capsular invasion.
Stage II	Macroscopic invasion into surrounding fat tissue or mediastinal pleura or microscopic invasion into capsule
Stage III	Macroscopic invasion into neighboring organ, i.e., pericardium, great vessels, or lung
Stage IV	Pleural or pericardial dissemination Lymphogenous or hematogenous metastasis

병리의사가 수질형, 혼합형, 기관양 분화형, 피질형, 고분화 흉선암종과 미분화 흉선암종으로 재분류하였다. 진단이 일치하지 않는 경우는 토의를 통해 일치된 진단을 기록하였으며 각 예당 5개에서 35개의 조직절편 슬라이드를 검색하였다.

5. 면역조직화학 염색

흉선종의 슬라이드를 검토후 보존 상태가 양호하고 조직학적 유형 분류에 적합한 대표적인 파라핀 블록을 각 예에서 2개씩 선택하였다. 종양 조직내 bcl-2와 MIC-2 단백질의 발현을 보기 위하여 LSAB kit (DAKO, Carpinteria, CA, USA)를 이용하여 labeled streptavidin-biotin 방법으로 염색하였고 일차 항체로는 MIC-2단백(CD 99)(dilution 1 : 50, DAKO, Carpinteria, CA, USA)과 bcl-2단백(dilution 1 : 50, DAKO, Carpinteria, CA, USA)을 이용하였다. 파라핀 포매된 조직으로부터 5 μ m의 절편을 만들어 xylene과 alcohol로 탈파라핀과 함수를 시킨 후 H₂O₂(1.5% H₂O₂/methanol)로 10분간 내인성 과산화 효소(endogenous peroxidase)를 차단 시켰다. Tris buffer(pH 7.4)로 수세후, bcl-2 단백질염색을 위한 절편은 citric acid buffer(pH 6.0)에서 microwave(800 watt, 10분)에 의한 antigen retrieval과정을 거친후 bcl-2 일차 항체를 반응 시켰다(실온에서 1시간, 4°C에서 overnight). MIC-2 단백질 염색을 위한 절편은 antigen retrieval과정을 거치지 않고 bcl-2 일차 항체와 동일한 반응과정을 거쳤다. 일차 항체 반응 후 결합이 안된 항체를 Tris buffer로 수세하고 biotin이 결합된 이차항체를 20분간 반응시킨 다음 Tris buffer로 수세하였다. 과산화 효소(peroxidase)가 결합된 streptavidin 용액을 다시 20분간 반응시킨 후 수세하고 발색제(diaminobenzidine 10 mg, Tris buffer 15 cc, 3% H₂O₂ 1.2 cc, Sigma)에 반응시키고 hematoxylin으로 염색 후 발삼(balsam)으로 봉합하였다.

Table 2. Age distribution

Year	No(%)
<29	4(4.7)
30~39	22(25.6)
40~49	21(24.4)
50~59	17(19.8)
>60	22(25.6)
Total	86(100)

6. 면역조직화학 염색에 대한 해석

면역조직화학적 염색에 대한 반응은 여러 유형이 섞여 있는 경우 조직학적 유형을 분류하는데 가장 대표되는 부위를 선택하여 관찰하였으며 등급은 광학현미경 200배 시야에서 MIC-2단백과 bcl-2단백에 대해 반응을 보인 림프구의 백분율에 따라 0(negative), 1+(<1/3 positivity), 2+(1/3~2/3 positivity), 3+(>2/3 positivity) 으로 나누었다. 혼합형은 피질과 수질의 분화를 보이는 부분이 서로 섞여있는 intermingling area(혼재 영역)에서 등급을 정하였다. 기관양 분화형인 경우는 피질 분화 영역과 수질 분화 영역으로 구분하여 등급을 정하였다.

7. 통계학적 분석

조직학적 유형과 병기와의 관련성, 조직학적 유형과 중증근무력증과의 관련성, 배종심의 유무와 중증근무력증과의 관련성, 조직학적 유형별 bcl-2단백과 MIC-2단백의 표현 정도와의 관련성 여부를 chi-square test로 분석하였다(p<0.05).

결 과

1. 임상 양상 및 조직학적 유형

1) 연령분포 및 성비: 총 86명의 환자의 연령은 14세부터 73세의 범위에 존재하였고 연령별 빈도는 29세 미만이 4명이었고, 30대부터 60세 이상까지 고르게 분포하였다(Table 2). 전체 남녀 성비는 1.3:1로 남자가 많았다.

2) 조직학적 유형별 빈도: 86예는 진단 당시 적용한 분류법이 다양하였는데 Saylor와 Eaglestone²⁶의 분류법에 의하면 림프구 우세형 30예, 상피세포 우세형 15예, 혼합형 23예, 방추세포형 4예, 흉선암종 14

Table 3. Age, sex, myasthenia gravis, and stages in each histologic subtype

Subtype(n)	Age(mean)	Male:Female	M.G	Stage			
				I	II	III	IV
Medullary(4)	50~67(61.5)	2: 2	0(0)	2	2	0	0
Mixed(19)	20~69(50.8)	6:13	2(10.5)	15	4	0	0
PC(8)	33~64(47.8)	3: 5	6(75)	5	3	0	0
Cortical(11)	26~56(40.6)	7: 4	9(81.8)	7	3	1	0
WDTC(30)	14~66(43.8)	20:10	19(63.3)	10	8	12	0
PDTC(14)	34~73(54.8)	11: 3	0(0)	0	3	4	7
Total(86)	14~73(47.3)	1.3: 1	36	39	23	17	7

M.G.: Myasthenia gravis

PC: Predominantly cortical type

WDTC: Well differentiated thymic carcinoma

PDTC: Poorly differentiated thymic carcinoma

Table 4. Stages and histologic subtypes

Subtype(n)	Stage	
	I & II(%)	III & IV(%)
Medullary(4)	4(100)	0(0)
Mixed(19)	19(100)	0(0)
PC(8)	8(100)	0(0)
*Cortical(11)	10(90.9)	1(9.1)
*WDTC(30)	18(60.0)	12(40.0)
*PDTC(14)	3(21.4)	11(78.6)

*P<0.002

PC: Predominantly cortical type

WDTC: Well differentiated thymic carcinoma

PDTC: Poorly differentiated thymic carcinoma

에 었다. Kirchner와 Müller-Hermelink의 분류에 의하면 고분화 흉선암종이 86예중 30예(34.9%)로 가장 높았고 혼합형이 19예(22.1%), 미분화 흉선암종이 14예(15.3%), 피질형이 11예(12.8%), 기관양 분화형이 8예(9.3%), 수질형이 4예(4.7%)의 순서였다(Table 3).

3) 조직학적 유형별 임상 양상:

(1) 조직학적 유형별 연령 분포 및 성비; 조직학적 유형별 연령 분포는 전체 연령 분포와 유사하였고 각 유형내 큰 차이는 없었다. 조직학적 유형별 남녀 성비는 피질형, 고분화 흉선암종, 미분화 흉선암종이 남자가 많았고 수질형을 제외한 나머지 유형에서는

Table 5. Myasthenia gravis and histologic subtype

Subtype(n)	Myasthenia gravis	
	+(%)	- (%)
Medullary(4)	0(0)	4(100)
*Mixed(19)	2(10.5)	17(89.5)
*PC, Cortical, WDTC(49)	34(69.4)	15(30.6)
PDTC(14)	0(0)	14(100)
Total 86	36	50

*P<0.00005

PC: Predominantly cortical type

WDTC: Well differentiated thymic carcinoma

PDTC: Poorly differentiated thymic carcinoma

여자의 빈도가 높았다(Table 3).

(2) 조직학적 유형별 병기; Masaoka의 분류에 따른 병기는 수질형, 혼합형, 기관양 분화형은 모두 초기 병기인 병기 I과 II에 속했고, 피질형은 병기 III이 1예(9.1%), 고분화 흉선암종은 병기 III이 12예(40%), 미분화 흉선암종은 병기 III과 IV가 각각 4예(28.6%)와 7예(50%)로 나타나 피질형, 고분화 흉선암종, 미분화 흉선암종으로 갈수록 병기가 높은 예가 많아졌는데 이는 통계학적으로 유의한 차이를 보였다(p<0.002)(Table 4).

(3) 조직학적 유형별 중증근무력증의 관계; 중증근

무력증은 수질형과 미분화 흉선암종에서는 동반되지 않았고 피질형의 81.8%(9/11), 기관양 분화형의 75%(6/8), 고분화 흉선암종의 63.3%(19/30), 혼합형의 10.5%(6/8) 순서로 동반되었다(Table 3). 혼합형과 중증근무력증이 잘 동반되는 군(기관양 분화형, 피질형, 고분화 흉선암종)사이에는 중증근무력증의 동반율에 있어서 통계학적으로 유의한 차이(p<0.00005)를 보였다(Table 5).

4) **배중심(germinal center)과 중증근무력증:** 종양 내부와 주변 흉선내 배중심이 있었던 예는 모두 23에 있는데 이 중 18예(78.3%)가 중증근무력증과 동반되었고, 배중심이 없는 63예 중 중증근무력증이 동반되는 경우는 18예(28.6%)로 나타나 배중심이 존재할 때 중증근무력증이 동반되는 것은 통계학적으로 유의 하였다(p<0.0002)(Table 6). 조직학적 유형별로 배중심의 동반 빈도가 다르게 나타났는데 수질형, 혼합형, 미분화 흉선암종에서는 배중심이 관찰되

지 않았고 고분화 흉선암종이 13예(56.5%), 피질형이 6예(26.1%), 기관양 분화형이 4예(17.4%)에서 배중심이 관찰되었다.

2. 조직학적 유형과 면역조직화학 염색 결과 (Table 7)

1) **정상 흉선:** 정상 흉선은 림프구가 풍부하고 상피세포의 수가 적은 피질영역과 이에 비해 림프구의 밀도가 떨어지고 상피세포의 수가 많으며 해셀소체(Hassall's corpuscle)가 존재하는 수질로 구분되었다(Fig. 1a). 피질에서는 둥글고 세포질이 비교적 풍부하며 공포성 핵을 가진 상피세포가 관찰되었고, 수질에서 상피세포는 피질상피세포보다 작고 난원형 또는 방추형 모양이며 비교적 고른 염색질을 지니고 있었다. MIC-2 단백질은 주로 피질의 림프구에 양성 반응을 보인 반면(Fig. 1b), bcl-2단백은 주로 수질의 림프구에 양성 반응을 보였다(Fig. 1c).

2) **수질형:** 모두 4예(4.7%)가 있었는데 종양은 비교적 작은 크기의 방추형 또는 난원형 세포로 구성되었다. 핵은 산재된 염색질을 보였고 핵소체는 뚜렷하지 않았다. 저배율 소견상 다양한 형태를 보였고 크고 작은 양성 변화를 보이기도 하였다. 종양내 소수의 림프구가 관찰되었으며 종양내 섬유성 격벽이 존재하는 경우도 있었다. 다른 조직학적 유형과는 혼합되어 있지 않았다(Fig. 2a). MIC-2단백에 대한 염색에서 종양내 림프구는 4예 모두 1+ 이하의 양성반응을 보였고 상피세포는 음성으로 나타났다(Fig. 2b). bcl-2단백에 대한 염색에서 종양내 림프구는 3예(75%)가 3+의 양성반응을 보였고 나머지 1예

Table 6. Germinal center and myasthenia gravis

Germinal Center(n)	Myasthenia gravis	
	+(%)	- (%)
+(23)	18(78.3)	5(21.7)
-(63)	18(28.6)	45(71.4)
Total (86)	36	50

p<0.0002

Table 7. Results of immunohistochemical stains in lymphocytes of thymoma

Subtype (n)	MIC-2				bcl-2			
	0	1+	2+	3+	0	1+	2+	3+
Medullary(4)	0	4	0	0	0	0	1	3
Mixed(19)	0	0	3	16	1	14	4	0
PC(8)	1(8)	0(0)	0(0)	7(0)	2(0)	6(1)	0(1)	0(6)
Cortical(11)	0	1	1	9	0	7	4	0
WDTC(30)	8	11	8	3	1	8	4	17
PDTC(14)	12	2	0	0	3	4	4	3

(): Medullary differentiated area of predominantly cortical type
 PC: Predominantly cortical type
 WDTC: Well differentiated thymic carcinoma
 PDTC: Poorly differentiated thymic carcinoma

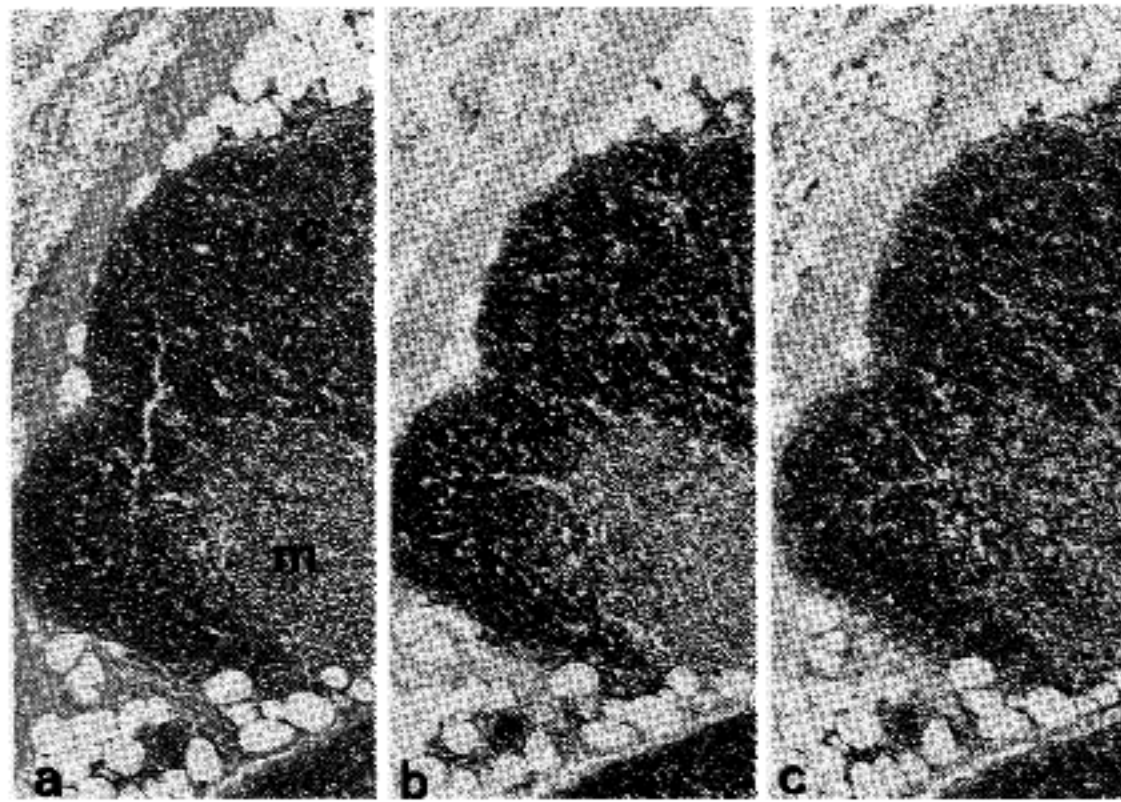


Fig. 1. Normal thymus.

- a. Histologic findings: Cortex(C) and medullary(M) areas.
- b. Immunohistochemical stain for MIC-2 protein: Positive reaction for cortical lymphocytes(DAB with hematoxylin counter stain).
- c. Immunohistochemical stains for bcl-2 protein: Positive reaction for medullary lymphocytes(DAB with hematoxylin counter stain).

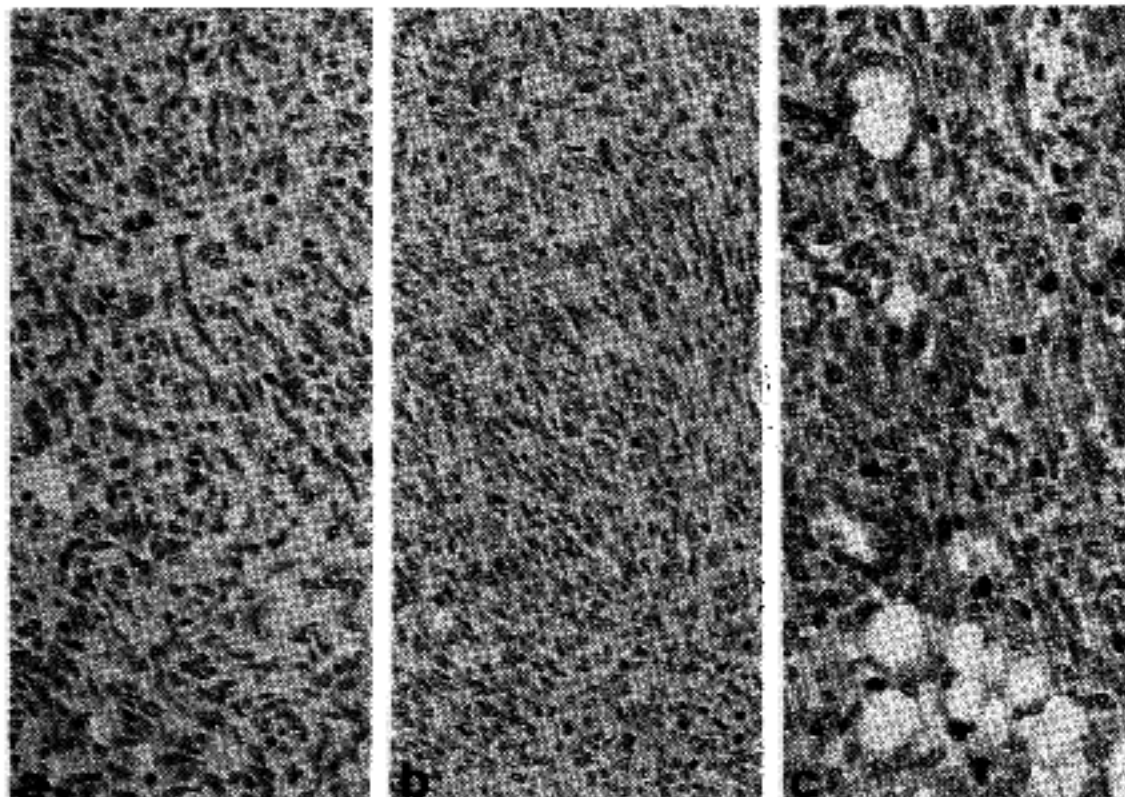


Fig. 2. Medullary Thymoma.

- a. Histologic findings: Composed of spindle or oval cells showing storiform pattern. Evenly distributed granular nuclear chromatin pattern with occasional inconspicuous nucleoli.
- b. Immunohistochemical stain for MIC-2 protein: Negativity of lymphocytes and epithelial cells(DAB with hematoxylin counter stain).
- c. Immunohistochemical stain for bcl-2 protein: Positive reaction for lymphocytes and some epithelial cell(DAB with hematoxylin counter stain).

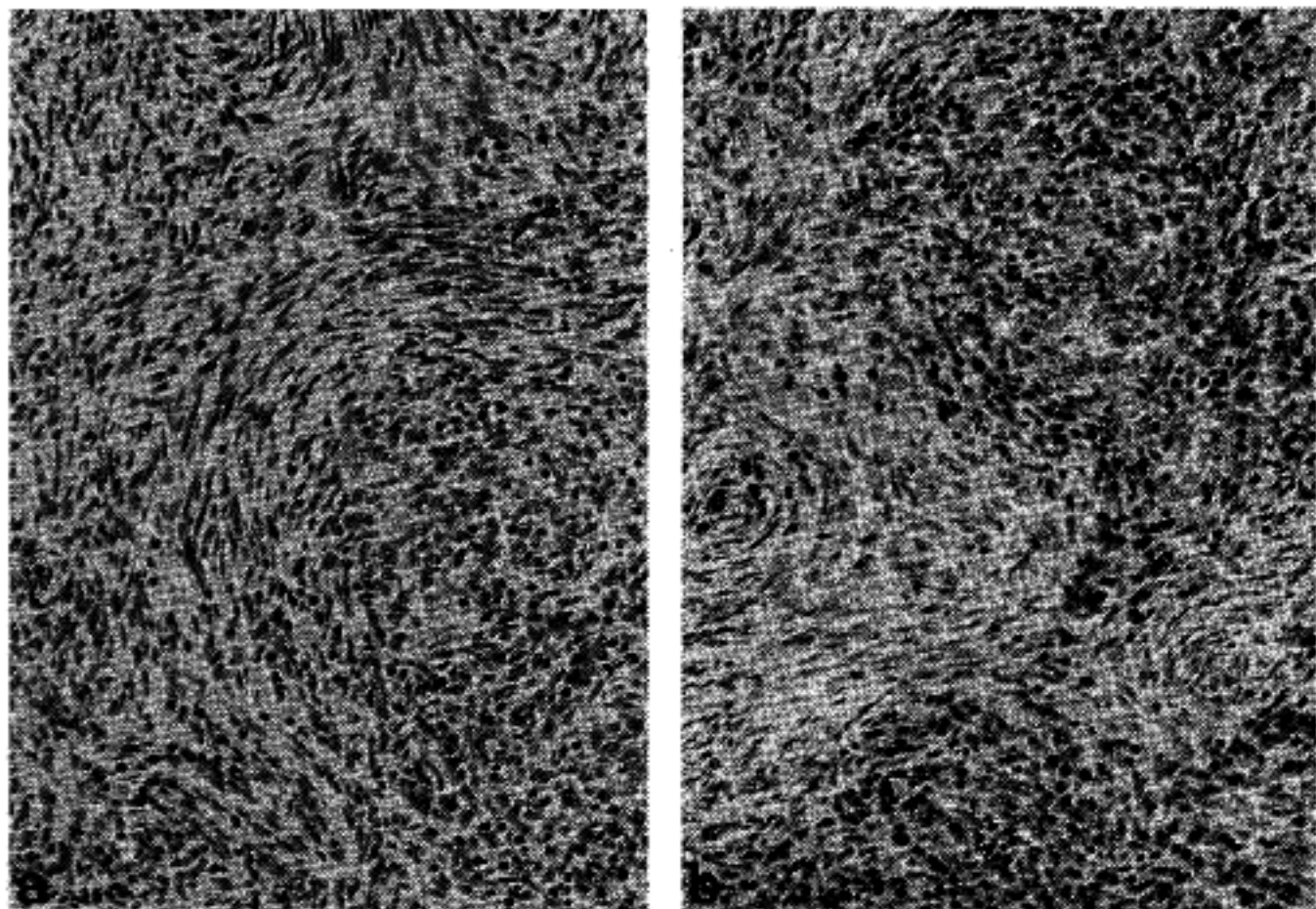


Fig. 3. Intermingling type.

- a. Histologic findings: Areas showing increased lymphocytes(cortical differentiated area) are intermixed with medullary epithelial cells having storiform pattern(arrow).
- b. Immunohistochemical stain for MIC-2 protein: Positive immunoreactivity(3+) in lymphocytes within lymphocyte-rich area(DAB with hematoxylin counter stain).

(25%)는 2+의 양성반응을 나타냈고,상피세포는 부분적으로 약한 양성 반응을 보였다(Fig. 2c).

3) 혼합형: 혼합형은 네가지 유형을 보였는데 첫 번째 유형은 복합형(composite type)으로 수질형 상피 세포들이 수질형 흉선종과 유사하게 경계가 뚜렷한 소결절의 형태로 나타났으며 기관양 분화를 보인 영역에 의해 둘러싸여 있는 형태였다. 면역조직화학 염색에서 이 결절은 MIC-2단백에 상피세포와 림프구 모두 음성으로 나타나 수질형 흉선종과 유사한 소결절이었고 주변 기관양 분화 영역은 대부분의 림프구에 양성반응을 보였다. bcl-2 단백질은 수질형 상피 세포로 이루어진 이 소결절 내부의 림프구에서 수질형 흉선종과 유사한 정도의 양성 반응을 보였고 상피세포들은 음성이었다. 두 번째 유형은 혼재형(intermingling type)으로 긴 방추형의 수질형 상피세포들이 소용돌이 치는 형태(storiform pattern)를 보였으며 그 사이에 림프구의 밀도가 높은 부분이 존재하였고, 이 부위의 상피세포들은 난원형 또는 짧은 방추형으로 림프구에 가려 구분이 어려웠다(Fig. 3a). 이 부분에 존재하는 림프구는 16예(84.2%)가 MIC-2

단백에 3+의 양성반응을 보였고(Table 7)(Fig. 3b). 15예(78.9%)가 bcl-2단백에 음성이거나 1+의 양성반응을 보였다(Table 7). 세 번째 유형은 수질형 상피 세포만으로 이루어진 부분이 경계가 불분명한 작은 세포 군집(small cell nest)의 형태로 나타나고 주변 림프구에 의해 둘러싸여 있었다. 상피세포 군집 주변의 림프구는 MIC-2단백에 3+의 양성 반응을 보였고 군집 내부에 존재하는 소수의 림프구들은 일부는 bcl-2단백에 표현되었고 일부는 MIC-2단백에 표현되었다. 네 번째 유형은 중간세포형(intermediate type)으로 피질형 상피세포나 수질형 상피세포로 구분하기 어려운 중간 단계의 세포로서 전형적인 수질형 상피세포보다 세포가 짧고 핵의 염색질과 핵소체는 수질세포와 유사하며 림프구가 상피세포 사이에 미만성으로 분포되어 있었다. 이 유형은 림프구가 MIC-2 단백질에 3+의 양성 반응을 보이고, bcl-2 단백질에는 음성이거나 1-의 양성반응을 보였다. 하나의 혼합형 흉선종에서도 부위별로 다양한 유형을 보였는데, 혼합형으로 분류된 19예 모두가 혼재형 영역을 보였고 이 중 16예(89.5%)가 전술한 세 번째 유형의 수

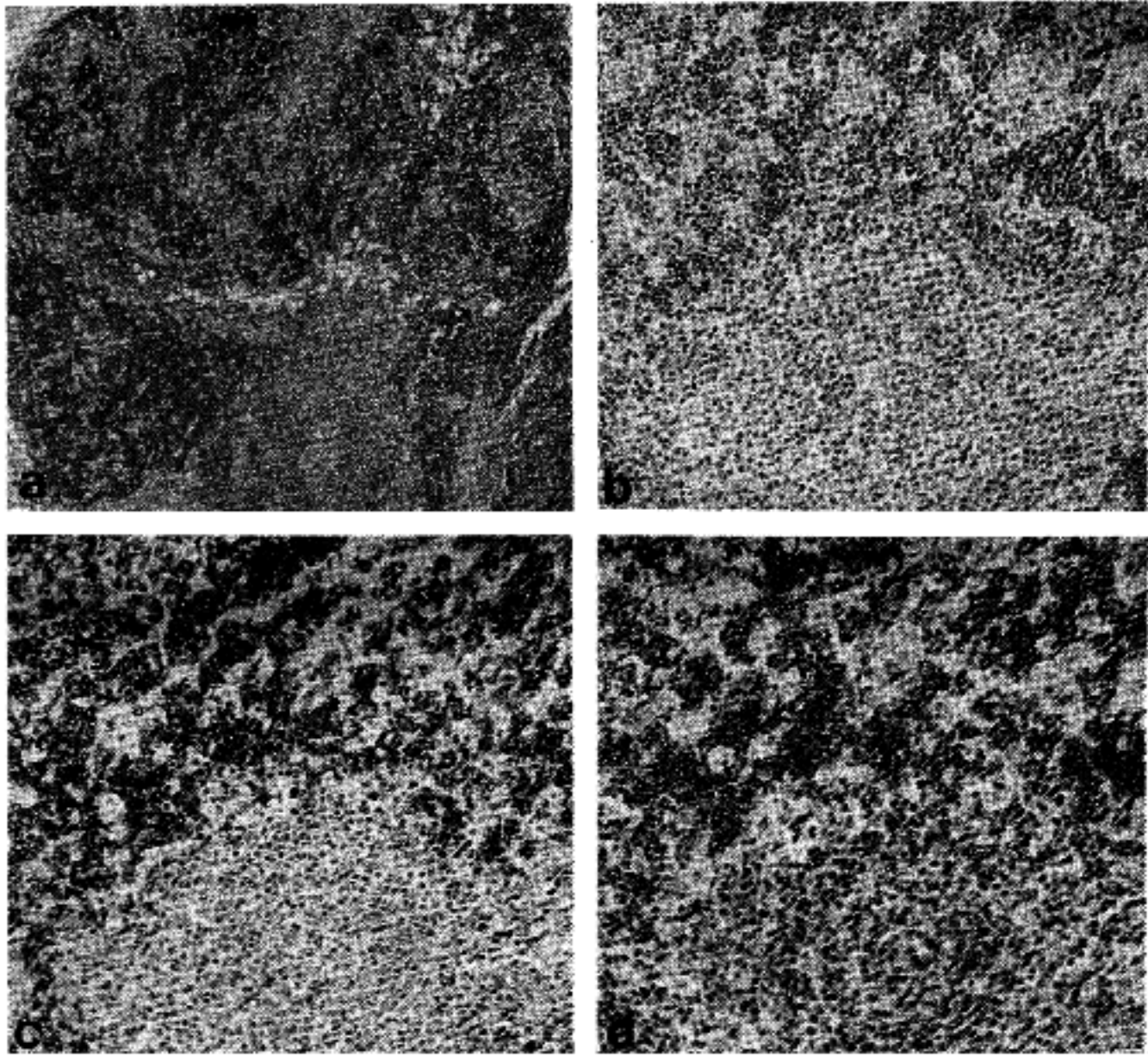


Fig. 4. Predominantly cortical thymoma.

- a. Histologic findings: Lobular architecture at low magnification.
- b. Medullary area(arrow) is composed of relatively less lymphocytes and Hassal's corpuscle.
- c. Immunohistochemical stain for MIC-2 protein: Most of lymphocytes within thymoma show 3+ immunoreactivity(DAB with hematoxylin counter stain).
- d. Immunohistochemical stain for bcl-2 protein: Lymphocytes within medullary area show 3+ immunoreactivity(DAB with hematoxylin counter stain).

질형 상피세포의 작은 군집을 보였으며 14예(73.7%)에서 중간세포형 영역을 보였고 1예가 복합형이었다. 혼합형으로 분류된 모든 예에서 상피세포에 대한 bcl-2 단백질 염색은 음성이었다.

4) 기관양 분화형: 모두 8예였고 정상흉선의 구조와 유사한 엽상 구조를 보이기도 하지만 미만성의 형태를 보이는 경우가 더 많았다. 종양의 대부분이 정상 흉선의 피질과 유사하였고(Fig. 4a), 저배율 소견상 세포의 밀도가 떨어지는 수질 분화 영역이 종종 관찰되었다(Fig. 4b). 상피세포의 수가 적고 주변 림프구에 가려 관찰하기가 어려웠다. MIC-2 단백질에 대한 림프구의 반응은 피질 분화 영역인 경우 7예(87.5%)가 3+의 양성반응을 보였고(Fig. 4c), 1 예는

음성이었으며 수질 분화 영역은 전 예가 음성이었다. Bcl-2 단백질에 대한 림프구의 반응은 수질 분화 영역은 6예(75%)가 3+의 양성반응 이었고 피질 분화 영역은 8예 모두 음성이거나 1+의 양성반응을 나타냈다(Table 7)(Fig. 4d). 기관양으로 분류된 모든 예의 상피세포는 bcl-2 단백질에 대해 음성이었다.

5) 피질형: 모두 11예가 관찰되었는데 순수한 피질형 흉선종의 형태를 보인 경우가 4예(36.4%)였고 나머지 7예(63.6%)는 기관양 분화 영역과 동반되었다. 피질형 흉선종을 구성하는 상피세포는 세포가 크고 둥글며 핵은 공포성 염색질과 뚜렷하고 큰 호산성의 핵소체를 보였다. 저배율상에서도 상피세포가 눈에 띄며 상피세포가 차지하는 면적과 림프구가 차지하

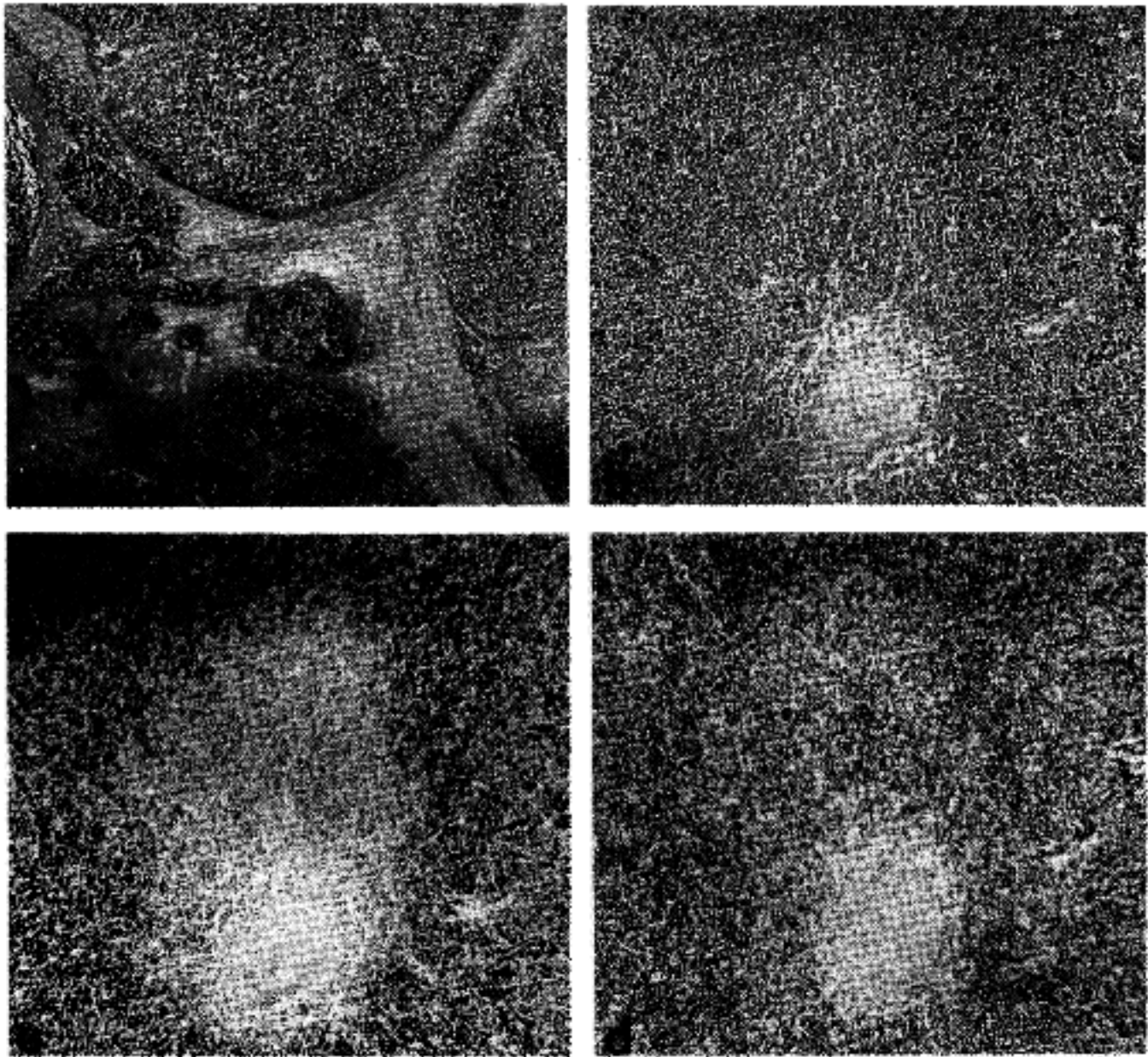


Fig. 5. Cortical Thymoma.

- a. Histologic findings: Epithelial cells are distinctive at low magnification field.
- b. Medullary differentiated area within cortical thymoma.
- c. Immunohistochemical stain for MIC-2 protein : Positive reaction(3+) in lymphocytes within cortical differentiated area and negative in medullary differentiated area(DAB with hematoxylin counter stain).
- d. Immunohistochemical stain for bcl-2 protein : 3+ immunoreactivity of lymphocytes within medullary differentiated area and 1+ immunoreactivity within cortical differentiated area(DAB with hematoxylin counter stain).

는 면적이 비슷하게 나타났다(Fig. 5a). 종양내 수질 분화 영역을 보이는 경우가 있었는데 이 부분의 림프구는 bcl-2단백에 대해 양성반응을 보였다(Fig. 5b). 종양내 림프구는 MIC-2단백에 대해 9예(81.8%)가 3+의 양성반응을 보이고(Fig. 5c), bcl-2단백은 7예(73.6%)가 1+ 이하의 양성반응을 보였고 나머지 4예(36.4%)는 2+의 양성반응을 보였다(Table 7)(Fig. 5d). 상피세포는 모든 예에서 bcl-2단백에 대해 음성이었다.

6) 고분화 흉선암종: 모두 30예가 관찰되었는데 순수하게 고분화 흉선암종으로만 이루어진 경우는 3예

(10%)이고, 피질형 흉선종이 섞여있는 경우가 24예(80%), 수질형과 기관양 분화형이 섞여있는 경우가 3예(10%)로 나타났다. 순수한 고분화 흉선암종 3예 중에는 방추 세포형이 1예 존재하였다. 고분화 흉선종을 구성하는 상피세포들은 피질형 흉선종을 구성하는 세포와 유사하였으나 세포가 중등도의 대소부동증이 동반되고 관찰배열을 보였다(Fig. 6a), 두꺼운 섬유성 격벽이 종양내부에서 자주 관찰되었다. 방추 세포형인 경우 수질형 흉선종과의 감별이 어려운데 수질형 흉선종의 상피세포보다 세포가 크고 세포질이 풍부하며 핵이 공포성이다. 유사분열이 10개의

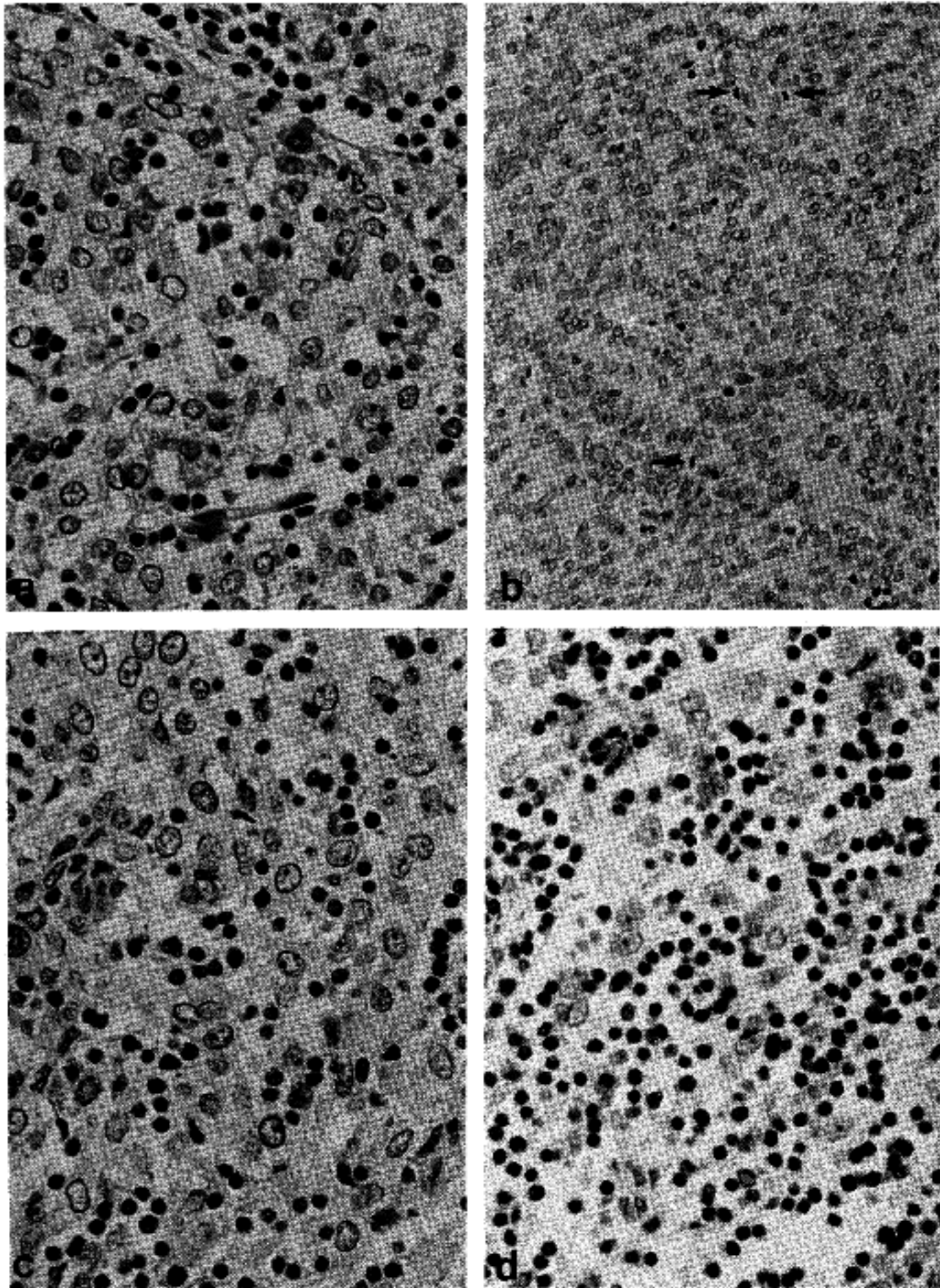


Fig. 6. Well differentiated thymic carcinoma.

- a. Histologic findings: Composed of solid sheet of cortical type epithelium showing mild nuclear atypism.
- b. Spindle cell variant: Sheet of short spindle cells having vacuolated nuclear chromatin pattern shows larger cell size and more plump cytoplasm than epithelial cells in medullary thymoma. Mitoses(arrow) are occasionally found. Lymphocytes within tumor is negative for MIC-2 protein(DAB with hematoxylin counter stain).
- c. Immunohistochemical stain for MIC-2 protein: Negative in both lymphocytes and epithelial cells(DAB with hematoxylin counter stain).
- d. Immunohistochemical stain for bcl-2 protein: Lymphocytes are 3+ immunoreactive and epithelial cells are negative (DAB with hematoxylin counter stain).

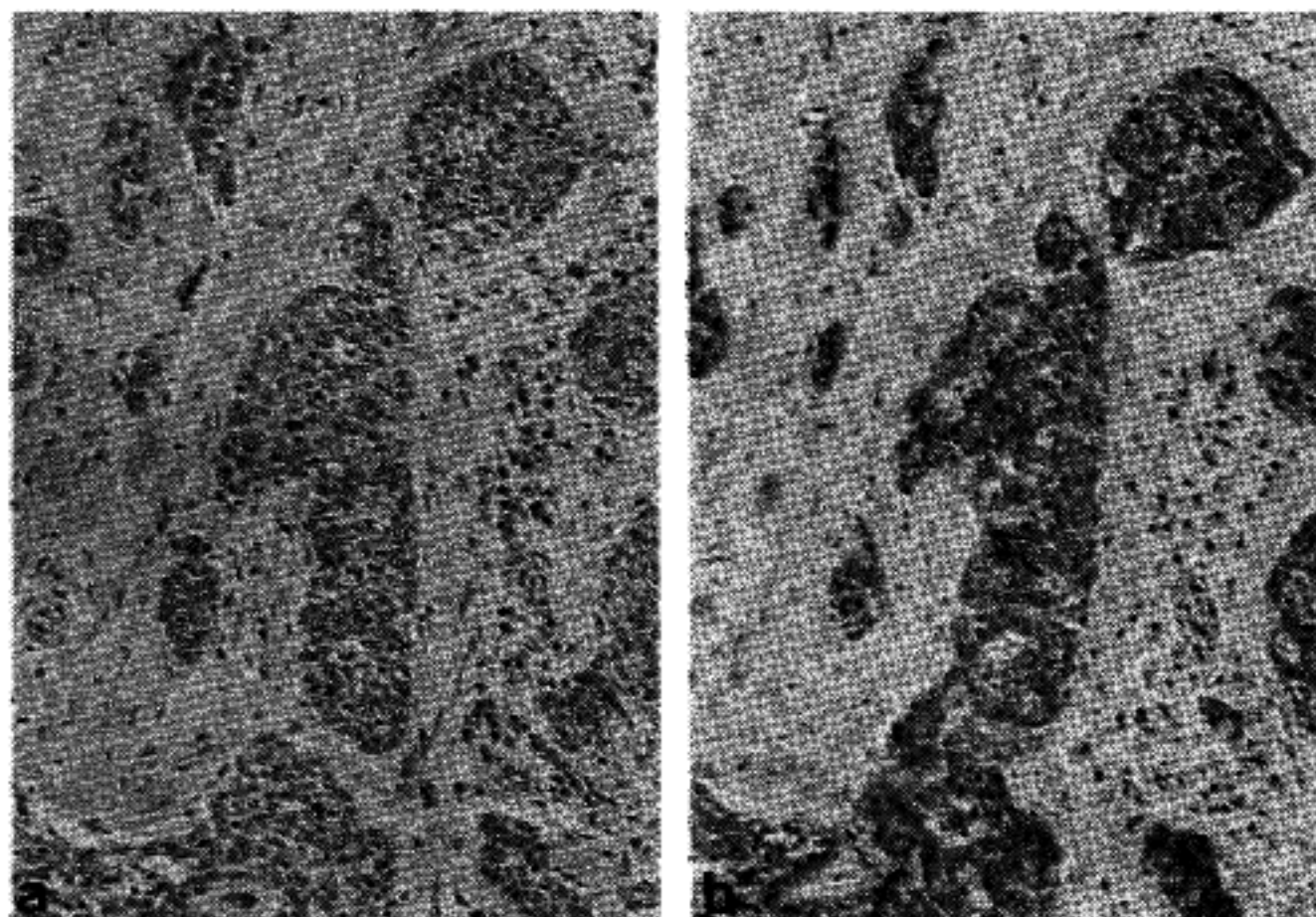


Fig. 7. Poorly differentiated thymic carcinoma.
 a. Histologic findings: Cytologically malignant cells infiltrate into surrounding tissue with desmoplastic reaction.
 b. Immunohistochemical stain for bcl-2 protein: Strong immunoreactivity in epithelial cells and weak in lymphocytes within surrounding stroma(DAB with hematoxylin counter stain).

고배율 시야에서 1개 이상 관찰되었다(Fig. 6b). 종양 내 림프구는 MIC-2단백에 대한 염색에서 19예(63.3%)가 음성이거나 1+의 양성반응을 보였고(Table 7)(Fig. 6c), 3예(10%)가 3+의 양성반응을 보였다. Bcl-2 단백질은 17예(56.7%)가 3+의 양성반응을 보였다(Table 7)(Fig. 6d). 상피세포는 모든 예에서 bcl-2 단백질에 대해 음성이었다.

7) 미분화 흉선암종: 모두 14예였고 결합조직 형성을 동반하며 침습성 세포군집을 이루고 있었다. 세포학적으로 대소부동종이 심하고 유사분열이 자주 관찰되는 악성세포로 구성되고(Fig. 7a), 평평상피세포의 분화를 보이는 경우가 2예 존재하였다. 종양내 존재하는 림프구는 MIC-2단백에 12예(85.7%)가 음성이었고 bcl-2 단백질은 음성에서 3+의 양성까지 다양하게 존재하였다(Table 7). 구성하는 상피세포는 14예 모두 bcl-2단백에 3+의 양성 반응을 보였고(Fig. 7b) MIC-2단백에는 음성이었다.

MIC-2 단백질 및 bcl-2 단백질 표현 정도를 림프구의 양성반응이 1+ 이하인 군과 2+ 이상인 군으로 나누었을 때 MIC-2단백은 수질형과 미분화 흉선암종

Table 8. Immunoreactivity for MIC-2 protein in lymphocytes of thymoma

Subtype(n)	MIC-2	
	0 or 1+(%)	2+ or 3+(%)
Medullary(4)	4(100)	0(0)
Mixed(19)	0(0)	19(100)
PC(8)	1(12.5)	7(87.5)
Cortical(11)	1(9.1)	10(90.9)
WDTC(30)	19(63.3)	11(36.7)
PDTC(14)	14(100)	0(0)

PC: Predominantly cortical type
 WDTC: Well differentiated thymic carcinoma
 PDTC: Poorly differentiated thymic carcinoma

에서는 모두 음성이거나 1+의 양성반응을 보였다. 혼합형, 기관양 분화형, 피질형은 각각 19예(100%), 7예(87.5%), 10예(90.9%)가 2+ 이상의 양성 반응을 보였고 고분화 흉선암종인 경우 11예(36.7%)가 2+

Table 9. Immunoreactivity for bcl-2 protein in lymphocytes of thymoma

Subtype(n)	bcl-2	
	0 or 1+(%)	2+ or 3+(%)
Medullary(4)	0(0)	4(100)
Mixed(19)	15(78.9)	4(21.1)
PC(8)	8(100)	0(0)
Cortical(11)	7(63.6)	4(36.4)
WDTC(30)	9(30.0)	21(70.0)
PDTC(14)	7(50)	7(50)

PC: Predominantly cortical type

WDTC: Well differentiated thymic carcinoma

PDTC: Poorly differentiated thymic carcinoma

이상의 양성 반응을 보여 앞의 유형들(혼합형, 기관양 분화형, 피질형)과 유의한 차이를 보였다($p < 0.0009$)(Table 8). Bcl-2단백은 수질형의 모든 예에서 종양내 림프구가 2+ 이상의 양성 반응을 보였다. 혼합형, 기관양 분화형, 그리고 피질형 흉선종내의 림프구는 각각 4예(21.1%), 0예, 4예(36.4%)에서 2+ 이상의 양성 반응을 보였고 고분화 흉선암종인 경우 21예(70.0%)가 2+ 이상의 양성 반응을 보여 전술한 유형들과 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p < 0.0002$)(Table 9). 상피세포에 대한 bcl-2 단백질은 모든 예의 미분화 흉선암종내 상피세포들에는 3+의 강양성 반응을 보인 반면 나머지 유형들의 상피세포들에는 음성반응이었다.

고 찰

본 연구의 결과에서 흉선종의 연령별 분포는 30대, 40대, 50대에서 고르게 나타났고 60세 이상의 고령에서도 25.6%의 높은 빈도를 보이는 반면 29세 이하(4.7%)에서는 발생 빈도가 낮았다. 평균 연령은 47.3세로 이전의 보고¹⁷와 유사하였다. 남녀 성비는 1.3: 1로 남자가 더 많았고 조직학적 유형별 남녀 성비는 혼합형, 기관양 분화형은 여자가 더 많았고 반면 피질형, 고분화 흉선암종, 미분화 흉선암종인 경우는 남자에서 더 많이 발생하여 예후가 좋지 않은 조직학적 유형에 남자의 분포가 높았다. 조직학적 유형별 빈도는 고분화 흉선암종이 가장 많았고 혼합형, 미분화 흉선암종, 피질형, 기관양 분화형, 수질형

의 순으로 나타났다. 이러한 빈도 순서는 고분화 흉선암종을 제외하고 이전의 보고들과^{4,13} 유사하였으며 홍콩의 경우는^{17,24} 고분화 흉선암종 및 다른 유형의 빈도까지 본 연구와 같이 나타났다. 조직학적 유형에 따른 병기는 수질형, 혼합형, 기관양 분화형인 경우 모두 비교적 초기 병기인 병기 I과 II에 속하였고 높은 병기(병기 III과 IV)에 속하는 경우를 비교했을 때 피질형은 9.1%, 고분화 흉선암종이 40.0%, 미분화 흉선암종은 78.6%로 나타나 조직학적 유형중 피질형 상피세포가 많아 질수록 병기가 높게 나타났다($p < 0.002$). 이는 이전의 보고들과^{3,4,12,13,17,25} 일치하는 소견이다. 중증근무력증은 수질형과 미분화 흉선암종에서는 동반되지 않았고 피질형의 81.8%, 기관양 분화형의 75%, 고분화 흉선암종의 63.3%, 혼합형의 10.5%에서 동반되어 주로 피질 분화를 보이는 유형에서 동반이 되었고, 이는 기존의 보고들과^{3,4,12,13,17} 유사하게 나타났다. 본 연구에서 종양내 또는 종양 주위의 흉선에서 배중심이 중증근무력증과 유의하게 동반됨을 관찰할 수 있었고($p < 0.0002$) 또한 배중심이 관찰된 23예의 조직학적 유형은 고분화 흉선암종 13예(56.5%), 피질형 6예(26.1%), 기관양 분화형 4예(17.4%)였고 수질형, 혼합형, 미분화 흉선암종에서는 동반되지 않아 배중심이 중증근무력증과 동반이 잘 되는 조직학적 유형에서 주로 나타남을 관찰하였는데 이는 조직학적 유형별로 중증근무력증의 동반율이 차이가 나는 이유가 조직학적 유형별로 배중심의 동반율이 차이를 보이기 때문이라는 것을 시사하는 소견이다.

조직학적 재분류를 하는데 있어서의 어려운 점은 일부 유형에서 다른 조직학적 유형을 같이 동반하는 점이었다. 피질형에서는 기관양 분화형이 동반이 잘 되며, 고분화 흉선암종인 경우 피질형 및 기관양 분화형이 같이 동반되는 경우가 많았다. 이들 두가지 유형의 경우 동반된 기관양 분화형에서 정상 흉선의 수질과 유사한 수질 분화 영역을 흔히 관찰할 수 있는데 이는 혼합형에서 나타나는 수질형 상피세포 증식 영역과는 조직학적으로 상피세포의 수가 적고 림프구의 수가 상대적으로 많이 나타나며 전형적인 방추형의 상피세포가 적다는 점으로 감별이 가능하였다.

혼합형의 정의는 아직 명확하지 않다고 생각되는데 초창기 분류의² 정의에 의하면 혼합형은 수질형 상피세포와 피질형 상피세포가 섞여 나타나는 일반형(common type), 피질 우세형(cortical predominant type)과 수질 우세형(medullary predominant type)이 존재한다고 하였는데 피질 우세형인 경우 피질형 흉선종과

유사하다고 하였으나 이후 수정보완된 Kirchner와 Müller-Hermelink의 분류법³에서는 수질형 상피세포와 기관양 분화형이 섞여 있는 양상에 따라 복합형 (composite type)과 혼재형 (intermingling type), 그리고 수질형 상피세포의 작은 군집형 (small nest of medullary epithelial cells)⁴으로 구분하였다. 본 연구에서는 혼재형의 경우 수질형 상피세포 사이에 림프구가 증가되어 있는 곳에 전형적인 피질형 상피세포와는 다르게 세포가 작고 난원형 또는 방추형의 상피세포가 관찰되어 형태학적으로 피질 분화(피질형 흉선종 또는 기관양 분화형)로 보기에는 어려움이 있다고 생각되었다. 그러나 이 부분의 림프구는 MIC-2단백에 주로 표현이 되어 면역학적 표현형은 정상 흉선의 피질 분화에 합당하였다. 또한 피질형 상피세포나 수질형 상피세포로 구분하기 어려운 중간 단계의 세포로서 전형적인 수질형 상피세포보다 짧고 핵의 염색질과 핵소체는 수질세포와 유사하며 림프구가 상피세포 사이에 미만성으로 분포되어 있는 중간세포형이 관찰되었다. 따라서 혼합형 흉선종에서는 수질형 상피세포와 피질 분화를 보이는 기관양 분화형이 동반될 수 있고, 수질형 상피세포와 피질 림프구의 표현형을 보이는 림프구 증가 영역이 섞여 있을 수 있으며, 중간세포와 함께 비교적 많은 수의 림프구가 미만성으로 분포하는 중간세포형도 나타날 수 있으나 수질형 상피세포 증식 영역이 전형적인 피질형 흉선종과 혼합되는 유형은 오히려 드물게 존재한다고 생각된다.

조직학적 유형을 분류하는데 있어서의 또 다른 문제점은 고분화 흉선암종의 정의에 대한 것으로 이것의 정의가 피질형 상피세포가 관상배열을 보이는 것인데²⁷ 실제로는 다수에서 상당수의 림프구를 동반하기 때문에 피질형 흉선종과 명확한 구분이 어려운 경우가 있다. 본 연구에서 피질형 흉선종 영역과 함께 부분적으로 피질형 상피세포가 증가해 있으며 고분화 흉선암종으로 분류하기에는 관상배열의 소견이 부족한 예가 있었다. 피질형 흉선종에 합당한 영역은 종양내 림프구가 MIC-2단백에 3+의 양성 반응을 보인 반면 상피세포가 증가한 영역은 음성이거나 1+의 양성 반응을 보여 MIC-2 단백질의 염색 결과는 고분화 흉선암종과 유사하였으나 발견 당시 낮은 병기(병기 I)였다. 피질형 흉선종과 고분화 흉선암종의 구분이 어려운 경우 생물학적 행동 양상을 결정하기 위해서는 지속적인 추적관찰이 필요할 것으로 사료된다. 고분화 흉선암종 중 방추 세포형이 1예 있었는데 이 유형은 수질형 흉선종과 감별이 어려웠다.

저배율 소견상 두꺼운 섬유성 격벽이 관찰되었고 세포학적으로 방추형 세포의 형태를 보이며 수질형 상피세포보다 크고, 상대적으로 풍부한 세포질 및 공포성 염색질의 핵을 가지고 있었으며 유사분열이 10개의 고배율 시야에서 1개 이상이 관찰되는 점이 수질형 흉선종과 구분되는 점이었다. 또한 발견당시에 병기 III 였고 2년 후 병기 IV로 진행(흉강내 다발성 재발)되는 매우 공격적인 진행을 보여 임상적으로도 양호한 임상 경과를 보이는 수질형 흉선종과 구분되는 행동 양상을 보였다. 종양내 림프구는 MIC-2 단백질에 1+ 이하의 양성 반응을 보였고 bcl-2단백에는 부위별로 다양한 양성반응(1+에서 3+까지)을 보였으며 bcl-2단백에 대한 면역조직화학 염색에서 부분적으로 상피세포가 bcl-2단백에 표현이 되었는데 주로 세포의 크기가 작고 세포밀도가 높은 부분에서 표현되었다.

피질형 흉선종인 경우 수질 분화 영역을 보인 1예가 관찰되었는데 이는 기존의 보고²⁴에서는 관찰되지 않았던 소견으로 이는 조직 절편의 선택에 따른 문제로 생각되며 이 부분의 림프구들은 bcl-2단백에 대한 면역조직화학 염색에서 강양성 반응을 보였다.

MIC-2 유전자는 성염색체의 가성상염색체 영역 (pseudoautosomal region)에 존재하며, MIC-2 단백질은 정상적으로 흉선의 피질 림프구, 난소의 과립막 세포 및 Langerhan's islet cell들에 양성 반응을 보이고 종양에 있어서는 Ewing sarcoma, 원시 신경외배엽 종양 및 림프모구 림프종에 양성 반응을 보여 소아의 소원형세포암종의 진단에 유용하게 사용될 수 있다²⁸⁻³⁰.

MIC-2 단백질에 대한 면역조직화학 염색에서 혼합형중 혼재형 영역, 기관양 분화형, 피질형인 경우 종양내 림프구가 2+ 이상의 양성을 보인 예가 각각 19예(100%), 7예(87.5%), 10예(90.9%)로 모두 높게 나타나서 피질형 상피 세포의 분화를 보이는 종양임을 간접적으로 증명할 수 있었다. 반면 피질형 상피세포 기원의 종양이라도 고분화 흉선암종인 경우 30예 중 11예(36.7%)가 MIC-2단백에 2+ 이상의 양성 반응을 보여 앞의 유형들과 유의한 차이를 보였는데($p < 0.0009$) 이러한 소견은 고분화 흉선암종을 이루는 상피세포가 정상 흉선의 피질 상피세포와는 다른 성질이 있음을 시사하는 소견이며 생물학적으로도 다른 행동 양상을 보이는 것이 상피세포의 성질의 변화에서 기인한 것임을 간접적으로 시사하는 소견이다. 미분화 흉선암종의 모든 예에서 종양내 림프구가 MIC-2단백에 음성이거나 1+의 양성 반응을 보

었는데 이러한 소견 또한 위의 소견을 뒷받침한다고 생각한다. 흉선종에서의 MIC-2 단백질에 대한 최근의 연구³⁰에서는 미분화 흉선암종에 속하는 종양내 림프구에서는 MIC-2 단백질이 표현 되지 않는다고 하였으나 본 연구에서는 14예 중 2예에서 종양내 림프구가 MIC-2 단백질에 양성 반응을 보였다. 이러한 차이점은 고분화 흉선암종과 미분화 흉선암종 사이의 중간형에 속하는 군이 존재하기 때문에 나타난 결과로 사료된다. 수질형인 경우 역시 종양내 림프구가 모든 예에서 MIC-2 단백질에 음성이거나 1+의 양성 반응을 보였는데 정상 흉선의 경우에도 수질 부위는 MIC-2 단백질에 소수의 림프구만이 표현되는 점으로 미루어 이 분류법의 이론적 근거를 뒷받침하는 소견이다.

Bcl-2 단백질은 정상적으로 미성숙한 조혈세포, 상피세포종 재생을 담당하는 영역, 홀몬의 영향을 받는 장기(유방, 전립선, 자궁내막, 갑상선)의 상피세포에서 과표현되고, 종양에서는 14번과 18번의 염색체 전위와 관련되어 여포성 림프종과 미만성 B 세포기원 림프종에서 표현되며 고사를 억제하여 세포의 생존에 도움을 주는 것으로 알려져있다^{31,34}.

Bcl-2 단백질에 대한 염색에서 혼합형(혼재형 영역), 기관양 분화형, 피질형인 경우 종양내 림프구가 2+ 이상의 양성반응을 보인 예가 각각 4예(21.1%), 0예, 4예(36.4%)로 낮게 나타났고 고분화 흉선암종인 경우 30예 중 21예로(70.0%) 전술한 유형들과 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p < 0.0002$). 수질형 흉선종인 경우 모든 예가 2+ 이상의 양성반응을 보였다. 이러한 결과는 MIC-2 단백질과는 반대되는 소견이며 정상 흉선에서의 표현양상으로 미루어 이 분류법의 이론적 근거를 뒷받침할 수 있는 것으로 생각된다.

최근 상피세포암종의 bcl-2 단백질 표현 양상에 대한 연구에 의하면 폐의 비소세포암종인 경우 bcl-2 단백질이 표현이 될수록 예후가 좋고²¹, 유방암에서는 bcl-2 단백질의 표현이 estrogen receptor의 양성율과 비례하며²², 갑상선의 수질성 암종에서는 bcl-2 단백질 표현이 안되는 경우 예후가 좋지 않고²⁴, 자궁내막의 증식성 병변은 등급이 올라 갈수록 bcl-2 단백질의 표현이 적게 됨을 보고²³하였으나 신경아 세포종³⁵과 전립선 암종³⁶에서는 bcl-2 단백질이 표현될수록 나쁜 예후와 관련이 있다고 보고하여 장기 및 조직학적 유형에 따라 bcl-2 단백질이 다양한 결과를 보였다. 본 연구에 포함된 미분화 흉선암종인 경우 모든 예에서 상피세포가 bcl-2 단백질에 미만성으로 강양성 반응을 보였는데 이는 흉선 기원의 종양에서는 bcl-2 단백질 표현이 분화

가 좋지 않은 조직학적 유형과 나쁜 예후와 연관성이 있음을 시사하는 소견이라고 생각되었다.

결 론

흉선종으로 진단된 86예를 Müller-Hermelink의 조직학적 분류법으로 재분류하고 이 분류법의 임상적 유용성을 알아보기 위하여 병기와 중증근무력증과의 상관관계를 살펴보고 MIC-2 단백질과 bcl-2 단백질에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하여 이 분류법의 이론적 근거를 검색하고자 하였다. 이 분류법으로 분류된 조직학적 유형에 따라 중증근무력증과의 동반율이 차이가 있었으며 병기와도 상관관계를 보여 임상적으로 유용한 분류법으로 사료되었다. 또한 피질의 분화를 보이거나 피질형 상피세포로 이루어진 흉선종에서는 종양내 림프구가 MIC-2 단백질을 주로 표현하였고, 수질의 분화를 보이거나 수질형 상피세포로 이루어진 흉선종에서는 종양내 림프구가 bcl-2 단백질을 주로 표현하여서 세포의 형태학적 분류법인 이 분류법의 이론적 근거를 뒷받침하는 소견이라고 생각된다. 또한 bcl-2 단백질은 미분화 흉선암종에서 강양성 반응을 보여 종양의 악성도와 밀접한 관련을 보이므로 흉선 종양의 공격성을 예측하는데 중요한 인자로 적용될 수 있다고 사료된다.

참 고 문 헌

1. Kornstein MJ. Controversies regarding the pathology of thymomas. *Pathol Ann* 1992; 1-15.
2. Marino M, Müller-Hermelink HK. Thymoma and thymic carcinoma. Relation of thymoma epithelial cells to the cortical and medullary differentiation of thymoma. *Virchow Arch [Pathol Anat]* 1985; 407: 119-149.
3. Kirchner T, Müller-Hermelink HK. New approaches to the diagnosis of thymic epithelial tumors. *Prog Surg Pathol* 1989; 10: 167-189.
4. Quintanilla-Martinez L, Müller-Hermelink HK, Wilkins EW Jr, Ferry JA, Harris NL. Thymoma. Morphologic subclassification correlates with invasiveness and immunologic features. Histogenetic subclassification correlates with clinical and immunohistochemical features. A study of 122 cases. *Hum Pathol* 1993; 24: 958-969.
5. Müller-Hermelink HK, Marino M, Palestro G, Schumacher U, Kirchner T. Immunohistochemical evidences of cortical and medullary differentiation in thymoma. *Virchows Arch [Pathol Anat]* 1985; 408: 143-61.
6. Pescarmona E, Rosati S, Pisacane A, Rendina EA,

- Venuta F, Baroni CD. Microscopic thymoma. histological evidence of multifocal cortical and medullary origin. *Histopathol* 1992; 20: 263-6.
7. Yang WI, Efird JT, Quintanilla-Martinez, Choi N, Harris NL. Cell kinetic study of thymic epithelial tumors using PCNA(PC10) and Ki-67(MIB-1) antibodies. *Hum Pathol* 1996; 27: 70-6.
 8. Rahilly MA, Edwards CW, Crocker J, Murray P. Epithelial cell type, clinical behaviour and AgNOR counts in thymic epithelial tumours. *Anal Cell Pathol* 1991; 3: 203-13.
 9. Pollack A, El-Naggar AK, Cox JD, Ro JY, Sahin A, Komaki R. Thymoma. The prognostic significance of flow cytometric DNA analysis. *Cancer* 1992; 69: 1702-9.
 10. Kuo TT, Lo SK. DNA flow cytometric study of thymic epithelial tumors with evaluation of its usefulness in the pathologic classification. *Hum Pathol* 1993; 24: 746-9.
 11. Tateyama H, Mizuno T, Tada T, Eimoto T, Hashimoto T, Masaoka A. Thymic epithelial tumours. Evaluation of malignant grade by quantification of proliferating cell nuclear antigen and nucleolar organizing regions. *Virchows Arch [Pathol Anat]* 1993; 422: 265-9.
 12. Pescarmona E, Rendina EA, Venuta F, D'Arcangelo E, Pagni M, Ricci C, Ruco LP, Baroni CD. Analysis of prognostic factors and clinicopathological staging of thymoma. *Ann Thorac Surg* 1990; 50: 534-8.
 13. Pescarmona E, Rendina EA, Venuta F, Ruco LP, Baroni CD. The prognostic implication of thymoma histologic subtype. A study of 80 consecutive cases. *Am J Clin Pathol* 1990; 93: 190-5.
 14. Quintanilla-Martinez L, Wilkins EW, Choi N, Efird J, Hug E, Harris NL. Thymoma. Histologic subclassification is an independent prognostic factor. *Cancer* 1994; 74: 606-17.
 15. Dawson A, Ibrahim NBN, Gibbs AR. Observer variations in the histopathological classification of thymoma. Correlation with prognosis. *J Clin Pathol* 1994; 47: 519-23.
 16. Kornstein MJ, Curran WJ, Turrisi III AT, Brooks JJ. Cortical versus medullary thymomas. A useful morphologic distinction? *Hum Pathol* 1988; 19: 1335-9.
 17. Ho FCS, Fu KH, Lam SY, Chiu SW, Chan ACL, Müller-Hermelink HK. Evaluation of a histogenetic classification for thymic epithelial tumors. *Histopathol* 1994; 25: 21-9.
 18. 박원서, 박성희, 김용일. "흉선종 66예에 대한 임상적 및 병리학적 분석". *대한병리학회지* 1992; 26: 372-80.
 19. Levy R, Dilley J, Fox RI, Warnke R. A human thymus-leukemia antigen defined by hybridoma monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 6652-6.
 20. Chan JKC, Tsan WYW, Seneviratne S, Pau MY. The MIC-2 antibody 013. Practical application for the study of thymic epithelial tumors. *Am J Surg Pathol* 1995; 19: 1115-23.
 21. Pezzella F, Turley H, Kuzu I, Tungekar MF, Dunnill MS, Pierce CB, Harris A, Gatter KC, Mason DY. Bcl-2 protein in non-small cell carcinoma. *New Engl J Med* 1993; 329: 690-4.
 22. Leek RD, Kaklamanis L, Pezzella F, Gatter KC, Harris AL. Bcl-2 in normal breast and carcinoma, association with estrogen receptor positive, growth factor receptor negative tumors and in situ cancer. *Br J Cancer* 1994; 69: 135-9.
 23. Chan WK, Mole MM, Levison DA, Ball RY, Lu QL, Patel K, Hanby AM. Nuclear and cytoplasmic bcl-2 expression in endometrial hyperplasia and adenocarcinoma. *J Pathol* 1995; 177: 241-6.
 24. Viale G, Roncalli M, Grimelius L, Graziani D, Wilander E, Johansson H, Bergholm U, Coggi G. Prognostic value of bcl-2 immunoreactivity in medullary thyroid carcinoma. *Hum Pathol* 1995; 26: 945-50.
 25. Masaoka A, Monden Y, Nakahara K, Tanioka T. Follow-up study of thymomas with special reference to their clinical stages. *Cancer* 1981; 48: 2485-92.
 26. Sayler WR, Egglestone JC. Thymoma. A clinical and pathological study of 65 cases. *Cancer* 1976; 37: 229-49.
 27. Kirchner T, Schalke B, Buchwald J, Ritter M, Marx A, Müller-Hermelink HK. Well-differentiated thymic carcinoma. An organotypical low-grade carcinoma with relationship to cortical thymoma. *Am J Surg Pathol* 1992; 16: 1153-69.
 28. Perlman EJ, Dickman PS, Askin FB, Grier HE, Miser JS, Link MP. Ewing's sarcoma-routine diagnostic utilization of MIC2 analysis. A Pediatric Oncology Group /Children Cancer Group Intergroup study. *Hum Pathol* 1994; 25: 304-7.
 29. Ring NP, Addis BJ. Thymoma. An integrated clinicopathological and immunohistochemical study. *J Pathol* 1986; 149: 327-37.
 30. Weidner N, Tjoi J. Immunohistochemical profile of monoclonal antibody 013. Antibody that recognizes glycoprotein p30/32^{MIC2} and is useful in diagnosing Ewing's sarcoma and peripheral neuroepithelioma. *Am J Surg Pathol* 1994; 18: 486-94.
 31. Tsujimoto Y, Croce CM. Analysis of the structure, transcripts and protein products of bcl-2, the gene involved in human follicular lymphoma. *Proc Natl*

- Acad Sci USA 1986; 83: 5214-8.
32. Aisenberg AC, Wilkes BM, Jacobson JO. The bcl-2 gene is rearranged in many diffuse B cell lymphoma. *Blood* 1988; 71: 969-72.
 33. Pezzella F, Ralfkiaer E, Gatter KC, Mason DY. The 14; 18 translocation in European cases of follicular lymphoma. Comparison of Southern blotting and the polymerase chain reaction. *Br J Haematol* 1990; 76: 58-64.
 34. Hockenbery D, Nunez G, Milliman C, Schreiber RD, Korsmeyer SJ. Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature* 1990; 348: 334-6.
 35. Castle VP, Heidelberg KP, Bromberg J, Ou X, Dole M, Nunez G. Expression of the apoptosis-suppressing protein bcl-2 in neuroblastoma is associated with unfavorable histology and N-myc amplification. *Am J Surg Pathol* 1993; 143: 1543-9.
 36. Colombel M, Symmans F, Gil S, O'Toole KM, Chopin D, Benson M, Olsson CA, Korsmeyer S, Buttyan R. Detection of the apoptosis-suppressing oncoprotein bcl-2 in hormone-refractory human prostate cancers. *Am J Surg Pathol* 1993; 143: 390-8.
-