

# 비정형 수막종에서 AgNORs와 MIB-1 표지지수의 진단적 의의

영남대학교 의과대학 병리학교실 및 <sup>1</sup>신경외과학교실

서 대 홍 · 김 동 석 · 김 오 룡<sup>1</sup>

## The Diagnostic Significance of AgNORs and MIB-1 Labelling Index in Atypical Meningioma

Dae Hong Suh, Dong Sug Kim, and Oh-Lyong Kim<sup>1</sup>

Department of Pathology and <sup>1</sup>Neurosurgery, Yeungnam University College of Medicine, Taegu 705-717, Korea

There is no definite histological criteria which can predict the biologic behavior of meningiomas, although resectability is the most important factor in terms of recurrence. For grading meningiomas, various factors have been studied, such as hypercellularity, nuclear pleomorphism, small cells with high N/C ratio, prominent nucleoli (PN), frequent mitosis, loss of architecture, focal necrosis (FN). We investigated 116 meningiomas to evaluate the correlation between the factors and the proliferative activity using AgNORs and MIB-1 labelling index (LI). They were divided into 3 groups: Group A includes meningiomas with none of the factors; group B with one of the factors; group C with two or more factors. MIB-1 LI was correlated with each factor, but AgNORs was not. There was a statistical difference among group A (<1.28%), B (2.7%) and C (5.1%) ( $p < 0.05$ ) using MIB-1 LI. FN was the most frequently associated with other factors, and it had the highest MIB-1 LI (6.31%). MIB-1 LI of group B was  $5.1 \pm 2.3\%$ . In group B, the most frequent combination was FN and PN, and it showed the highest MIB-1 LI (5.74%). This study indicates that FN and PN are important for diagnosis of atypical meningioma, and MIB-1 LI appears to be a useful method for estimating the proliferative activity of meningiomas, and 5% or more of MIB-1 LI could help in making a diagnosis of atypical meningioma. (Korean J Pathol 1998; 32: 1008 ~ 1014)

**Key Words:** Brain, atypical meningioma, Grading, Proliferative activity

### 서 론

수막종은 대체로 주위 조직과의 경계가 분명하며 서서히 자라는 종양으로서 완전히 절제하면 예후가 좋다. 그러나 보고에 따라 다르지만 0.9%에서 11%까지 다양한 재발률을 보이며 형태학적인 양상이 생물학적인 양상과 반드시 일치하지 않는 경우가 있어 재발유무를 포함한 환자예후 판단에 어려움이 있다. 즉, 재발을 전제로 한 비정형 수막종의 조직학적인 진단에는 객관적인

진단기준이 아직 정립되지 않고 있는 실정이다. 따라서 수막종의 생물학적인 양상을 판단하기 위해 다양한 형태학적인 소견들이 이용되고 있는데 저자 마다 내용은 유사하지만 애매한 점이 많아 임상적으로 쉽게 적용하기에는 어려움이 많다.<sup>1-4</sup> 수막종을 포함하여 다양한 종양에서 그 종양의 생물학적 양상을 판단하기 위해 세포의 증식능을 자주 이용한다. 종양세포의 증식능 측정에는 유사분열상을 비롯하여 Bromodeoxyuridine (BrDU)<sup>5-7</sup>, Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA),<sup>8-10</sup> Ki-67,<sup>11-15</sup> MIB-1을 이용한 표지지수,<sup>10,16,17</sup> Ag-Nuclear Organizer Regions (AgNORs)수<sup>18,19</sup> 및 염색체 배수성 검사<sup>20,21</sup> 등을 이용한다. 그러나 각 방법마다 장단점이 있어 BrDU는 수술 전에 생체 내에 주입해야 하는 번거로움이 있고, PCNA는 세포주기상 G1과 S기에 있는 세포만을 탐지하므로 G0를 제외한 나머지 모든 기에 있는 세포를 탐지하는 MIB-1보다 한계가 있다. Ki-67항체는 동결조직에

접 수: 1998년 7월 15일, 게재승인: 1998년 9월 3일

주 소: 대구광역시 남구 대명동 317-1, 우편번호 705-717

영남의대 병리학교실, 서대홍

ISSN : 0379-1149

\*이 연구는 1997년도 영남대학교 자유공모 연구비의 보조로 이루어졌음.

직접 사용하여야 함으로 염색성이 떨어지고 후향적 연구에는 부적합하다. AgNORs는 ribosomal RNA를 전사하는 DNA고리로서 특징적으로 은(Ag) 호기성이 있어 은염색시에 핵의 내부에 짙은 갈색 또는 검은 점으로 나타난다. AgNORs의 핵내 수와 면적 등은 ribosomal RNA의 전사능력의 표지자가 될 수 있어 종양성 병변의 증식능 측정에 자주 이용하고 있다. AgNORs는 이와 같이 증식능 측정에 자주 이용되며 재발유무를 판단할 수 있는 좋은 도구가 되고 후향적 연구를 할 수 있으나 상용적으로 사용하기에는 부적합한 면이 있다. MIB-1항체는 Ki-67 항원에 대한 항체로서 파라핀 조직에 적용할 수 있어 후향적 연구에 적합할 뿐만 아니라 만약 의의있는 결과를 얻는다면 MIB-1 표지지수의 측정은 크게 어려움이 없으므로 일상적인 진단병리 업무에 상용 수단으로 사용할 수 있는 장점이 있다. 국내외적으로 종양의 생물학적인 양상을 판단하기 위해 BrDU, AgNORs, PCNA, Ki-67 등을 이용하려는 시도는 있으나 MIB-1을 이용한 연구는 많지 않다. 더욱이 이를 수막종에 적용한 연구는 드물다.

이 연구에서는 영상분석장치 (Image Analysis System)를 이용하여 종양세포의 핵내 AgNORs 수와 면적을 측정하고 MIB-1을 이용한 면역조직화학적 검사를 이용하여 표지지수를 측정하여 기존에 알려진 재발과 관련된 형태학적인 소견과의 관계를 알아보고 비정형 수막종의 진단에 도움이 될 것인지를 알아보고자 한다.

## 대상 및 방법

### 1. 대 상

1988년 8월에서 1997년 7월까지 최근 10년동안 영남대학교 의과대학 병리학교실에서 진단된 수막종 중 파라핀 블록이 온전하게 보존된 116예를 대상으로 하였으며 역형성 수막종은 제외하였다. 환자의 평균 연령은  $51.6 \pm 12.6$ 세였으며 중앙값은 52세였다. 남녀비는 1:4였다. 수막종의 WHO의 분류기준<sup>3</sup>에 따른 조직학적 유형은 수막종형 42예 (36.2%), 섬유형 28예 (24.1%), 이행형 24예 (20.7%), 사종형 11예 (9.5%), 미세낭종형 7예 (6.0%), 분비형 2예 (1.7%) 그리고 척삭종형과 혈관종형이 각각 1예 (0.8%)이었다.

### 2. 방 법

1) 비정형 수막종의 진단에 사용된 조직학적 기준: 비정형 수막종의 형태학적 진단에 필요한 기준은 다양하다. 따라서 연구마다 언급한 기준에 따라 116 예를 재분류해야 할 필요성이 생겼고 고세포충실성 (hypercellularity), 핵의 다형성 (nuclear pleomorphism), 고핵세포질 비를 가진 소세포 (small cell with high N/C ratio, 이하 소세포로 약함), 뚜렷한 핵소체 (prominent nucleoli), 흔한 유사분열상 (frequent mitotic figures), 구조소실 (loss of architecture), 국소괴사 (focal necrosis) 및 뇌실질 침윤

(brain invasion) 등의 소견유무를 조사하였으며 그 기준은 다음과 같이 정하였다. 즉, 고세포충실성은 주위 종양부위보다 분명히 조밀한 경우, 핵의 다형성은 주위의 종양세포보다 세 배 이상 큰 세포가 있는 경우, 소세포는 세포는 작으나 핵세포질비가 높은 경우, 뚜렷한 핵소체는 100배 시야에서 핵소체가 분명히 보이는 경우, 흔한 유사분열상은 10개의 400배 시야를 세 번 이상 조사하여 얻은 유사분열상의 수를 평균한 값이 4 이상일 경우, 구조소실은 구조적으로 분명한 소용돌이의 소실이 있는 경우, 국소괴사는 조직괴사의 범위가 한 개의 400배 시야보다 작은 경우, 그리고 뇌실질 침윤은 분명한 뇌실질로의 침윤이 있는 경우로 정의하였고 뇌실질 침윤이 있는 경우는 역형성 수막종으로 분류하였다.

이상 기술한 조직학적 진단기준이 비정형 수막종의 진단에 각각 어느 정도의 연관성이 있는지 현재로서는 알 수 없으므로 각 기준 중 어느 한 소견도 없는 군 (A군), 어느 한 가지의 소견만을 보이는 군 (B군) 및 두 가지 이상의 소견을 보이는 군 (C군)의 세 군으로 나누어서 서로 비교하였다.

#### 2) AgNORs 수와 면적 산출:

(1) 염색방법; 파라핀 블록을 4  $\mu$ m 두께로 자른 후 xylene으로 탈파라핀 작업을 하고 이어서 100% 및 95% 알코올로 함수과정을 거친 후 1% formic acid용액에 젤라틴을 녹여 2%로 만든 용액과 50% silver nitrate용액을 1:2의 비율로 섞은 용액에 30 분간 암실에서 부치시켰다. 탈수과정과 청명과정을 거친 후 글리세린 젤리로 봉입하였다.

(2) AgNORs 수의 산출; 이미 염색된 슬라이드를 저배율에서 관찰하여 염색이 가장 깨끗하게 되었다고 판단되는 부위에서 400배로 관찰하여 종양세포의 수와 AgNORs의 수를 구한 후 핵대비 AgNORs 수의 백분율을 구하였다. 이때 격자무늬 렌즈를 사용하여 중복되지 않도록 주의하였다.

(3) AgNORs 면적의 산출; AgNORs 수를 산출한 부위를 컴퓨터의 모니터에서 영상으로 획득하여 영상분석 장치를 이용하여 한 개의 핵 내에 있는 모든 AgNORs의 면적의 합을 구하였다. 영상분석 장치는 Olympus BX50에 Hitachi 아나로그 카메라를 부착시켜 정해진 영상을 Coreco Frame Grabber를 이용하여 획득한 뒤 Optimas 6.0 프로그램을 이용하여 분석하였다.

#### 3) MIB-1 표지지수의 산출:

(1) 염색방법; MIB-1의 염색은 각 증례에서 형태학적으로 가장 잘 보존된 블록 한 개를 선택하여 4  $\mu$ m의 두께로 절편을 만들어 100% xylene으로 파라핀을 제거한 후 100%, 90%, 75% 알코올로 재수화하였다. 3% 과산화수소수를 15 분간 작용시킨 후 Tris 완충액으로 3회 세척한 다음 0.21% citric acid용액에 슬라이드를 넣고 5분간 극초단파로 처리한 후 단백질 차단제 (Zymed, USA)를 30분간 도포하였다. 일차항체는 MIB-1 (Zymed, USA)을 1:50의 비율로 희석하여 사용하였다. 일차항체를

**Table 1.** Correlation of 7 histological factors with number and area of AgNORs in 116 meningiomas

Factors (No.)	No. of AgNORs	Area of AgNORs
FN (17) (+/-)	1.48±0.37/1.43±0.30 (NS)	2.28±0.79/1.75±0.38 (p<0.05)
PN (13) (+/-)	1.45±0.39/1.43±0.30 (NS)	2.20±0.89/1.76±0.40 (p<0.05)
HC (12) (+/-)	1.38±0.34/1.44±0.30 (NS)	1.99±0.93/1.80±0.43 (NS)
FM (10) (+/-)	1.47±0.36/1.43±0.31 (NS)	1.89±0.53/1.82±0.50 (NS)
NP ( 8) (+/-)	1.79±0.28/1.41±0.29 (p<0.05)	1.80±0.43/2.10±1.05 (NS)
LA ( 3) (+/-)	1.45±0.36/1.43±0.29 (NS)	1.89±0.41/1.82±0.49 (NS)
SC ( 1) (+/-)	1.59/1.43±0.30 (NS)	1.36/1.83±0.51 (NS)

FN: focal necrosis, PN: prominent nucleoli, HC: hypercellularity, FM: frequent mitotic figures, NP: nuclear pleomorphism, LA: loss of architecture, SC: small cells with high N/C ratio, NS: not significant by  $\chi^2$ -test

37°C에서 2시간 동안 부치시킨 후 Tris완충액으로 3회 세척하였다. 그 후 이차항체인 연결항체 (LSAB kit, DAKO, USA)를 37°C에서 30분간 부치시킨 후 Tris 완충액으로 3회 세척하였으며 이어서 Streptavidin-HRP (Zymed, USA)로 30분간 도포한 후 Tris 완충액으로 3회 세척하였다. DAB (Diaminobenzidine tetrachloride)를 5~10분간 도포하여 발색하고 10% Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하였다.

(2) MIB-1 표지수치의 측정: 저배율 시야에서 염색된 슬라이드를 검색한 후 가장 많은 세포가 염색되었다고 판단되는 부위에서 400배 시야에서 1 mm<sup>2</sup> 범위 내의 세포수를 먼저 측정하고 후 진한 갈색으로 표지된 핵의 수를 헤아렸다. 그리고 전체 세포수에 대한 표지된 핵 수를 산출하여 백분율로 기록하였다. 이 경우에도 반드시 격자무늬 렌즈를 이용하여 중복되지 않도록 하였다. 표지된 세포가 거의 없는 경우에는 헤아리지 않고 1% 이하로 기록되 계산은 편의상 1%로 하였다.

4) 통계처리: AgNORs 수, AgNORs 면적 및 MIB-1 표지수치의 조직학적 소견에 따른 통계학적 의미는 SPSS/PC+ 프로그램을 이용하여  $\chi^2$ -test로 검정하였으며 유의수준은 0.05 이하로 하였다.

## 결 과

### 1. 조직학적 기준에 따른 AgNORs 수와 면적

116예 중 어느 한 소견이라도 관찰되는 예는 모두 64예 (56.1%)였으며 이 중 국소괴사를 보이는 예가 17예 (14.7%)로 가장 많았다. 그 이외에 뚜렷한 핵소체 13예 (11.2%), 고세포충실성 12예 (10.3%), 혼한 유사분열상 10예 (8.6%), 핵의 다형성 8예 (6.9%), 구조소실 3예 (2.6%) 및 소세포 1예 (0.9%) 순의 분포였고 이들은 다수에서 중복되어 있었다. AgNORs의 수를 산출하기 위해서 헤아린 종양세포의 수는 130±16 (mean±SD)이었다. AgNORs의 면적을 구하기 위해 헤아린 종양세포의 수는 30±5.2 (mean±SD)이었다. 각 진단기준의 유무에 따른 AgNORs 수의 비는 핵의 다형성의 경우에만 1.79

**Table 2.** Correlation of 7 histological factors with MIB-1 LI in 116 meningiomas

Factors (No.)	MIB-1 LI
FN (17) (+/-)	6.31±3.24/1.37±0.95 (p<0.05)
PN (13) (+/-)	4.91±3.12/1.79±2.00 (p<0.05)
HC (12) (+/-)	3.26±3.35/1.99±2.18 (p<0.05)
FM (10) (+/-)	4.39±2.76/1.93±2.21 (p<0.05)
NP ( 8) (+/-)	2.35±1.08/1.90±1.94 (NS)
LA ( 3) (+/-)	5.92±3.19/2.04±2.26 (p<0.05)
SC ( 1) (+/-)	2.30/1.10±2.25 (NS)

FN: focal necrosis, PN: prominent nucleoli, HC: hypercellularity, FM: frequent mitotic figures, NP: nuclear pleomorphism, LA: loss of architecture, SC: small cells with high N/C ratio, NS: not significant by  $\chi^2$ -test, LI: labelling index

±0.28 : 1.41±0.29 (p<0.05)으로서 관련이 있었다. 각 진단기준의 유무에 따른 AgNORs 면적의 비는 국소괴사와 뚜렷한 핵소체의 경우에만 각각 2.28±0.79 : 1.75±0.38 (p<0.05), 2.20±0.89 : 1.76±0.40 (p<0.05)으로서 관련이 있었다 (Table 1).

### 2. 조직학적 기준에 따른 MIB-1 표지수치

MIB-1 표지수치를 측정하기 위해 헤아린 종양세포의 수는 1,000±190 (mean±SD)이었다. 각 진단기준의 유무에 따른 MIB-1 표지수치의 비는 국소괴사 6.31±3.24 : 1.37±0.95 (p<0.05), 뚜렷한 핵소체 4.91±3.12 : 1.79±2.00 (p<0.05), 고세포충실성 3.26±3.35 : 1.99±2.18 (p<0.05), 혼한 유사분열상 4.39±2.76 : 1.93±2.21 (p<0.05) 그리고 구조소실 5.92±3.19 : 2.04±2.26 (p<0.05)으로서 핵의 다형성과 소세포를 제외한 기준에서 관련이 있었다 (Table 2).

Table 3. Key features of 3 groups of meningiomas

Group (No. of cases)	Mitosis (No./10HPFs)	No. of AgNORs	Area of AgNORs ( $\mu\text{m}^2$ )	MIB-1 LI (%)
A (81)	<1 <sup>a</sup>	1.4±0.2	0.49±0.09	<1.28 <sup>a</sup>
B (20)	2±2 <sup>a</sup>	1.4±0.3	0.51±0.10	2.7±2.3 <sup>a</sup>
C (15)	5±3 <sup>a</sup>	1.6±0.3	0.56±0.10	5.1±2.3 <sup>a</sup>

All data represent mean±SD, LI: labelling index, HPF: high power field, <sup>a</sup>: p<0.05

### 3. 실험군 A, B 및 C에 따른 유사분열상, AgNORs 수, 면적 및 MIB-1 표지 지수

실험군 A, B 및 C의 분포는 각각 81예 (70%), 20예 (17.2%) 및 15예 (13%)였다. 각 실험군에 따른 환자의 연령은 53±10, 48±10 및 52±14으로 실험군 간의 차이는 없었다. 유사분열상의 수는 각각 1이하, 2±2 및 5±3으로서 실험군 간의 유의있는 차이를 보였다. AgNORs의 수는 각각 1.4±0.2, 1.4±0.3, 1.6±0.3이고, AgNORs 면적은 각각 0.49±0.09, 0.51±0.10, 0.56±0.10  $\mu\text{m}^2$ 로서 실험군 간의 유의있는 차이는 없었다. MIB-1 표지 지수는 각각 1.28% 이하, 2.7±2.3, 5.1±2.3으로서 실험군 간의 유의있는 차이를 보였다 (Table 3).

A군과 B군의 20예 중 MIB-1 표지 지수가 5 이상인 경우는 모두 5예였으며 이 중 국소괴사를 보이는 경우는 3예였다. 한 개의 소견도 보이지 않으면서 MIB-1 표지 지수가 5 이상인 경우가 1예 있었다.

C군의 15예 중 가장 흔한 조합은 국소괴사와 뚜렷한 핵소체로 모두 7예 (47%)였고 국소괴사에 동반되는 나머지 소견은 고세포충실성 5, 흔한 유사분열상 5, 구조소실 2 및 핵의 다형성 1의 순이었고 모두 AgNORs 수 또는 면적과는 무관하였으며 (p>0.05) MIB-1 표지 지수와는 관련이 있었다 (p<0.05). 가장 흔한 조합인 국소괴사와 뚜렷한 핵소체를 동시에 보이는 예의 MIB-1 표지 지수는 5.74이었다. 뚜렷한 핵소체와 고세포충실성 또는 핵의 다형성과 흔한 유사분열상을 만족하는 예는 없었다.

## 고 찰

수막종은 지주막 세포에서 발생하며 매우 다양한 형태학적 소견을 보이는 종양이다. 수막종의 예후에 영향을 미치는 인자들은 수술적 제거정도, 종양의 위치, 다발성 및 조직학적 등급 등 여러 가지가 있다. 그 중 가장 중요한 예후인자는 종양의 수술적 제거정도이다. 그러나 수막종의 경우에는 완전히 제거했다고 하더라도 재발하는 경우가 있어 재발을 예견할 수 있는 절대적인 임상소견은 없는 실정이다.<sup>22-24</sup> 또한 수막종은 형태학적 소견이 종양의 생물학적 양상을 반드시 반영하지도 않는다. 따라서 수막종의 재발을 전제로 한 예후관련 인자로서 중요한 조직학적인 소견에 대해 정의하고자

하는 연구가 많다. 일반적으로 종양의 악성도를 판단하는데 중요한 조직학적 소견으로 고세포충실성, 핵의 다형성, 유사분열능, 종양의 괴사 및 주위조직으로의 침윤 유무 등을 고려한다. 암종의 등급체계는 1926년 Broder에 의해 처음으로 체계화되었다.<sup>25</sup> 그는 종양세포의 역분화 정도에 따라 암종을 1에서 4등급으로 나누었다. 그러나 최근에는 2등급과 3등급을 합쳐 하나의 등급으로 통일하면서 고분화 (well differentiated), 중분화 (moderately differentiated) 및 저분화 (poorly differentiated)의 3등급체계를 많이 이용하고 있다. 1949년 Kernohan등<sup>26</sup>은 Broder의 분류법에 따라 정상세포종을 역시 1에서 4등급으로 나누었다. Kernohan등에 의한 정상세포종의 4등급체계는 Ringertz,<sup>27</sup> Nelson등<sup>1</sup> 및 WHO<sup>3</sup>를 거치면서 3등급체제로 변모되었다. 이와 같이 인체 다른 부위의 암종과 뇌종양의 반 이상을 차지하는 정상세포종은 대체로 3등급체제로 통일되어 있어 실전에서 비교적 쉽게 적용할 수 있고 임상적으로 환자진료에 많은 도움을 얻고 있다. 그러나 수막종에 대한 등급체계는 비교적 최근이야 체계화하려는 시도가 시작되었으며 아직 완전하지는 않은 실정이다. 1993년 WHO의 수막종 분류에는 비정형 수막종 (atypical meningioma)이라는 종양이 비로소 등재되었으며 이는 양성 수막종과 악성 수막종의 중간 정도의 이형성을 보이는 종양으로 정의하고 있다. 즉, 기타 암종이나 정상세포종의 경우와 같은 3등급체계를 도입하였다고 할 수 있다. 그러나 WHO 분류에 의하면 비정형 수막종은 “흔한 유사분열상, 고세포충실성, 고핵세포질비를 가지거나 뚜렷한 핵소체를 가진 소세포, 구조소실, 국소괴사의 소견 중 종종 몇개의 소견을 보이는 수막종”으로 정의하고 있어 어디까지 적용해야 할지 상당히 애매하다.

WHO의 분류기준에 기술된 조직학적 소견들은 여러 보고<sup>2,28,29</sup>에서 이미 사용되고 있었던 내용들이다. Jaaskelainen등,<sup>28</sup> Rohringer등<sup>2</sup> 및 Mahmood등<sup>29</sup>은 이러한 조직학적인 소견의 경중에 따라 0점에서 3점까지의 점수를 부여한 후 이들 점수의 합이 얼마이냐에 따라 3 또는 4단계로 나눔으로써 수막종의 등급체계를 보다 객관화하고자 하였다. 이들이 기술한 등급체계<sup>2,28,29</sup>는 뇌실질 침윤 소견의 점수매김 방법을 제외하면 모두 같다고 할 수 있다. 이 모두 종양의 성장속도<sup>28</sup>나 종양의 재발률<sup>2,29</sup>과 깊은 연관이 있어서 일상적인 병리업무에 있어서 이들 소견을 신중히 검색하는 것이 매우 중요하리라

생각한다. 상기 기술된 보고들의 공통점을 보면 여섯 개 또는 일곱 개의 조직학적 소견 중 적어도 두 개 이상의 소견을 만족해야 비정형 수막종으로 진단한다는 점이다. 이 연구에서도 두 개 이상의 소견을 만족하는 예들의 증식능을 중요하게 생각하였다. 그러나 이 연구에서는 추적기간이 짧아 종양의 재발이 있는 환자를 중심으로 연구할 수는 없었다. 따라서 분자생물학적 기법으로 측정된 종양의 증식능을 기준으로 비교할 수 밖에 없었는데 종양의 증식능을 측정할 수 있는 방법에는 BrDU, AgNORs 수 및 면적, PCNA, Ki-67, MIB-1 등을 이용한 표지지수 그리고 염색체 배수성 검사 등이 이용되고 있다. 이 연구에서는 각 방법의 장단점과 실용적인 측면을 고려하여 AgNORs 수 및 면적, MIB-1을 이용한 표지지수를 증식능 표지자로 이용하였다.

기존의 연구에서는 비정형 수막종의 조직학적 진단 기준을 미리 정해 놓은 후 재발된 환자와 비교하는 방법을 택하고 있으나, 이 연구에서는 비정형 수막종의 진단 기준을 미리 정하지 않고 비정형 수막종의 진단에 사용되고 있는 조직학적 소견들을 나름대로 정의하여 이들을 증식능과 비교하여 조직학적 소견 중 증식능과 밀접한 연관이 있는 소견을 조사함으로써 실전에서 쉽게 적용할 수 있는 기준을 마련하고자 하였다.

조직학적 소견에 대한 구체적인 정의를 언급한 보고는 드물다. 그것은 핵의 다형성, 고세포충실성, 구조소실, 국소괴사, 뚜렷한 핵소체, 혼한 유사분열상 그리고 뇌실질 침윤 등의 용어에 대한 정의를 분명히 하기가 매우 어렵기 때문이다. Jaaskelainen<sup>28</sup>과 Rohringer<sup>29</sup>은 각 조직학적 소견의 경중에 따라 0에서 3점까지 점수를 부여함에 있어 그 정도에 대한 기준이 단지 "absent (0 점), uncommon (1), common (2) 및 frequent (3)"로 애매하게 정의하여 그들이 비록 그 기준을 객관화하려고 하였지만 재현성이 떨어질 뿐만 아니라 각 기관마다의 연구결과를 서로 비교하기가 어려운 단점이 있었다. 그러나 Mahmood<sup>29</sup>은 조직학적 소견의 경중에 대한 정의를 비교적 분명히 하여 재현성을 높이려 하였다. 그들의 결과에 의하면 비정형 또는 악성 수막종이 재발률에 있어서 양성과는 의의있는 차이가 있었다. McLean<sup>4</sup>은 상기 소견들을 나름대로 정의한 후 종양의 재발률과 비교하였다. 그들은 국소괴사를 200개 이하의 종양세포가 괴사된 곳으로 정의하여 이 연구에서 내린 정의와는 다르나, 여러 가지 조직학적 소견 중 국소괴사가 가장 중요한 예후인자라고 하여 이 연구와 유사한 결과를 보였다. 비정형 수막종의 중요한 진단기준으로 국소괴사의 소견을 강조하지 않은 보고도 있으나,<sup>30,31</sup> 대부분의 보고에서는 국소괴사를 중요한 기준으로 생각하였다.<sup>4,7,32-34</sup> 그 이외의 소견 중 고세포충실성과 유사분열상은 대부분의 연구에서 진단기준으로 사용하였고, 이 연구에서도 MIB-1 표지지수와 관련이 있는 것으로 나타나 그 중요성에 있어서 유사한 점이 있었다. 그러나 Langford<sup>7</sup>은 고세포충실성을 강조하지 않고 있다. 핵의 다형성은

Chen<sup>30</sup>의 경우만 강조하였으며 이 연구에서도 핵의 다형성은 MIB-1 표지지수와 무관하여 다른 보고들과 유사하다고 할 수 있다.

상기 기술한 증식능 측정방법 중 조직을 이용한 연구로는 AgNORs, PCNA, Ki-67 및 MIB-1 모두가 가능하다. AgNORs는 세포증식능을 반영하지만 세포주기와는 직접적인 관련이 없다. AgNORs는 핵소체 내에 존재하는 ribosomal RNA로서 콜로이드 단순염색에 의해 진한 갈색으로 나타나게 된다. AgNORs를 세포증식능 측정에 이용하려는 시도는 오래전부터 있어 왔고 AgNORs의 수와 면적이 재발률과 깊은 연관이 있다는 보고도 많다.<sup>18,36</sup> 그러나 실제적으로는 핵 내부의 작은 갈색 점들을 헤아리기가 쉽지 않으며 관찰자 사이의 차이가 많아 재현성과 실용성이 문제점으로 지적되고 있다.<sup>37</sup> 또한 AgNORs의 양성, 비정형 및 악성 수막종 간에 차이는 분명하지만 재발률과 무관하다는 보고도 있다.<sup>31</sup> 이 연구에서는 AgNORs가 소수의 조직학적 소견과만 관련이 있는 것으로 나타났고 각 실험군 간의 차이는 없는 것으로 나타나 다른 보고들과 직접적으로 비교할 수 없었다. 이는 보고마다 염색과정과 측정방법이 조금씩 다르기 때문에 생긴 결과로 생각한다.

PCNA, Ki-67 및 MIB-1은 면역조직화학적 방법을 이용한다는 점은 동일하나 이 중 PCNA와 MIB-1은 파라핀 포매조직을 이용할 수 있는 장점이 있다. PCNA는 DNA 치유과정에 관여하는 효소인 DNA polymerase delta의 보조단백으로서 cyclin의 일종이며 복제장소와 관련되어 핵 내에 존재한다.<sup>38</sup> PCNA는 G1기에 나타나서 S기때 최고치를 나타내므로 G0를 제외한 모든 기에 있는 세포를 탐지하는 Ki-67이나 MIB-1과는 다르다. PCNA는 다양한 성장인자에 의해 영향을 받을 뿐만 아니라 조직의 처리과정 중 영향을 받아 PCNA 표지지수가 세포의 증식능을 제대로 반영할 수 없다는 보고가 있다.<sup>39-42</sup> 또한 수막종의 증식능 측정에 PCNA를 이용한 연구는 소수에 불과하나<sup>9,10</sup> 이들 모두에서 PCNA는 종양의 재발률과는 무관한 결과를 보였다. 따라서 PCNA를 이용한 표지지수는 수막종의 증식능 측정에 있어서는 주의를 요할 것으로 생각한다.

Ki-67과 MIB-1 항체는 Ki-67 항원을 찾는 목적으로 사용된다는 점은 동일하나 Ki-67은 반드시 동결조직을 사용해야 한다. 즉, Ki-67은 G0 기를 제외한 모든 기에서 발현되므로 세포의 증식능을 충분히 반영할 수는 있으나 단백질분해효소나 건조와 고정 등의 과정에 대해 매우 민감하여 반드시 동결조직에 제한되어 사용해야 하는 단점이 있다.<sup>7</sup> 그러나 MIB-1은 동일한 Ki-67 항원을 탐지하지만 매우 안정되어 있어 파라핀 포매조직에도 쉽게 적용할 수 있는 장점이 있다. 이들 두 항체의 결과는 동일하게 비교될 수는 없지만 서로 유사하리라 생각한다. Ki-67<sup>11-15</sup>이나 MIB-1<sup>10,16,17</sup>을 이용한 보고에 의하면 이들의 표지지수는 재발된 예 또는 악성 수막종의 예에서 양성 수막종에 비해 의의있는 차이를 보여 수막

종의 증식능 판단에 중요한 도구로 사용할 수 있다고 하였다. 실제의 표지지수는 재발되지 않은 예에서는 0.87%에서 1.78%,<sup>14,15,17</sup> 재발된 예에서는 2.69%에서 3.6%<sup>15,17</sup>으로 보고되었고 재발과 연관된 실제의 MIB-1 표지지수를 3%로 정한 보고<sup>15</sup>도 있다. Langford등<sup>7</sup>은 재발유무를 기준으로 하지 않고 미리 비정형 수막종을 정의한 후 MIB-1 표지지수를 측정된 결과 비정형 수막종의 MIB-1 표지지수는 2.9%에서 12.6%의 분포를 보였으며 평균은 6.6%였다. 그러나 증례수가 4에로 제한되어 있어 더 많은 수에 대한 연구와 재발유무를 포함한 추적조사가 반드시 필요하리라 생각한다.

이 연구에서는 비정형 수막종의 조직학적 등급에 사용되는 소견이 하나도 없는 예의 MIB-1 표지지수는 1.28%이하였고 두 개 이상의 소견을 보이는 예의 MIB-1 표지지수는 5.08%이어서 대부분의 보고에서 비정형 수막종의 진단기준으로 두 개 이상의 소견을 사용하고 있다는 점을 감안하면 비정형 수막종의 MIB-1 표지지수는 적어도 5.08% 이상이 될 것으로 생각한다. 또한 MIB-1 표지지수가 5% 이상이면 수술로 제거된 수막종 조직을 모두 검색하여 국소괴사 소견을 비롯한 나머지 소견을 찾는 것이 진단과정에 있어서 매우 중요하리라 생각한다. 만약 MIB-1 표지지수가 5% 이상이나 이미 언급된 조직학적 소견이 관찰되지 않으면 이를 임상에게 반드시 알려주어야 할 것이다. 그러나 이는 단지 증식능을 기준으로 한 결과여서 반드시 종양의 재발을 반영한다고 단정지을 수는 없다. 따라서 이러한 증례들을 철저히 추적조사하여 임상적으로 재발과 연관이 있는지를 규명하여 결과를 보완하여야 할 것으로 생각한다.

AgNORs에 비해 MIB-1 표지지수는 더 많은 조직학적 소견과 관련이 있었으며, 실험군 간의 차이가 분명하여 MIB-1 표지지수가 AgNORs보다 수막종의 증식능을 더 잘 반영하는 것으로 생각한다.

결론적으로 비정형 수막종의 진단에 있어서 중요한 소견은 국소괴사와 뚜렷한 핵소체 소견이며, MIB-1 표지지수가 AgNORs보다 수막종의 증식능을 더 잘 반영하고, 5% 이상의 MIB-1 표지지수는 비정형 수막종의 진단에 보조적인 수단으로 충분히 사용할 수 있을 것으로 생각한다.

## 결 론

116예의 수막종을 대상으로 고세포충실성, 핵의 다형성, 소세포, 뚜렷한 핵소체, 혼한 유사분열상, 구조소실, 국소괴사 및 뇌실질 침윤 등의 소견과 이들의 가능한 모든 조합에 따른 AgNORs 수, 면적 및 MIB-1 표지지수를 측정하여 비정형 수막종의 진단에 있어서 중요한 조직학적 소견을 알아보고, AgNORs 수, 면적 및 MIB-1 표지지수가 갖는 의의를 조사하였고 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 조직소견 중 국소 괴사가 있는 경우가 17예(14.7%)

로 가장 많았다.

2) 두 개 이상의 조직소견을 보이는 15증례는 모두 AgNORs과는 무관하였으며 MIB-1 표지지수와는 관련이 있었고 MIB-1 표지지수의 평균값은 5.08%였다.

3) 두 개 이상의 조직소견을 보이는 증례 중 가장 흔한 조합은 국소괴사와 뚜렷한 핵소체를 동시에 보이는 예로서 모두 7예 (47%)였다.

4) MIB-1 표지지수는 AgNORs에 비해 더 많은 조직학적 소견과 관련이 있었으며, 실험군 간의 차이가 분명하였다.

결론적으로 비정형 수막종의 진단에 있어서 중요한 소견은 국소괴사와 뚜렷한 핵소체 소견이며, MIB-1 표지지수가 AgNORs보다 수막종의 증식능을 더 잘 반영하고, 5% 이상의 MIB-1 표지지수는 비정형 수막종의 진단에 보조적인 수단으로 사용할 수 있을 것으로 생각한다.

## 참 고 문 헌

1. Nelson JS, Tsukada Y, Schoenfeld D, Fulling K, Lamarche J, Peress N. Necrosis as a prognostic criterion in malignant supratentorial, astrocytic gliomas. *Cancer* 1983; 52: 550-4.
2. Rohringer M, Sutherland GR, Louw DF, Sima AAF. Incidence and clinicopathological features of meningioma. *J Neurosurg* 1989; 71: 665-72.
3. Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW. Histological typing of tumors of the central nervous system. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 1993.
4. McLean CA, Jolley D, Cukier E, Giles G, Gonzales MF. Atypical and malignant meningiomas: importance of micro-necrosis as a prognostic indicator. *Histopathology* 1993; 23: 349-53.
5. Hoshino T, Nagashima T, Murovic JA, Wilson CB, Davis RL. Proliferative potential of human meningiomas of the brain. A cell kinetics study with bromodeoxyuridine. *Cancer* 1986; 58: 1466-72.
6. Lee KS, Hoshino T, Rodriguez LA, Bederson J, Davis RL, Wilson CB. Bromodeoxyuridine labeling study of intracranial meningiomas: proliferative potential and recurrence. *Acta Neuropathol* 1990; 80: 311-7.
7. Langford LA, Cooksley CS, DeMonte F. Comparison of MIB-1 (Ki-67) antigen and bromodeoxyuridine proliferation indices in meningiomas. *Hum Pathol* 1996; 27: 350-4.
8. 조미연, 정순희, 김태승, 한용표. 성상교세포종의 조직학적 등급과 AgNORs수, PCNA 발현 및 유세포 측정기를 이용한 DNA의 분석의 비교. *대한병리학회지* 1994; 28: 49-55.
9. Zimmer C, Gottschalk J, Cervos-Navarro J. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in atypical and malignant meningiomas. *Pathol Res Pract* 1992; 188: 951-8.
10. Zorludemir S, Scheithauer BW, Hirose T, Van Houten C, Miller G, Meyer FB. Clear cell meningioma. A clinicopath-

- ologic study of a potentially aggressive variant of meningioma. *Am J Surg Pathol* 1995; 19: 493-505.
11. Roggendorf W, Schuster T, Peiffer J. Proliferative potential of meningiomas determined with the monoclonal antibody Ki-67. *Acta Neuropathol* 1987; 73: 361-4.
  12. Nishizaki T, Orita T, Furutani Y. Flow cytometric DNA analysis and immunohistochemical measurement of Ki-67 and BrDU labeling indices in human brain tumors. *J Neurosurg* 1989; 70: 379-84.
  13. Shibuya M, Ito S, Miwa T. Proliferative potential of brain tumors: Analysis with Ki-67 and anti-DNA polymerase alpha monoclonal antibodies, bromodeoxyuridine labeling, and nucleolar organizer region counts. *Cancer* 1993; 71: 199-206.
  14. Nakasu S, Nakajima M, Matsumura K, Nakasu Y, Handa J. Meningioma: proliferating potential and clinicopathological features. *Neurosurgery* 1995; 37: 1049-55.
  15. Matsuno A, Fujimaki T, Sasaki T, et al. Clinical and histopathological analysis of proliferative potentials of recurrent and non-recurrent meningiomas. *Acta Neuropathol* 1996; 91: 504-10.
  16. Karamitopoulou E, Perentes E, Diamantis I. Ki-67 immunoreactivity in human central nervous system tumors. A study with MIB-1 monoclonal antibody on archival material. *Acta Neuropathol* 1994; 87: 47-54.
  17. Yasue M, Akasaki Y, Numoto TR, et al. MIB-1 immunostaining and DNA flow cytometry in meningiomas. *Noshuyo Byori* 1996; 13: 17-20.
  18. Bagni A, Botticelli A, Martinelli A, Azzoni P, Trentini GP. AgNOR counts in recurrent and non-recurrent meningiomas. *Histopathology* 1991; 19: 465-7.
  19. Kunishio K, Ohmoto T, Matsuhisa T, Maeshiro T, Furuta T, Matsumoto K. The significance of nucleolar organizer region (AgNOR) score in predicting meningioma recurrence. *Cancer* 1994; 73: 2200-5.
  20. Salmon I, Kiss R, Levivier M, et al. Characterization of nuclear DNA content, proliferation index, and nuclear size in a series of 181 meningiomas, including benign primary, recurrent, and malignant tumors. *Am J Surg Pathol* 1993; 17: 239-47.
  21. Myong NH, Chi JG. Correlation of histopathologic classification with proliferation activity and DNA ploidy in 120 intracranial meningiomas, with special reference to atypical meningioma. *J Kor Med Sci* 1997; 12: 221-7.
  22. Adegbite AB, Khan MI, Paine KWE, Tan LK. The recurrence of intracranial meningiomas after surgical treatment. *J Neurosurg* 1983; 58: 51-6.
  23. Mirimanoff RO, Dosoretz DE, Linggood RM, Ojemann RG, Maruza. Meningioma: Analysis of recurrence and progression following neurosurgical resection. *J Neurosurg* 1985; 62: 18-24.
  24. Kepes JJ. Meningioma: A reflection of origins and expected behavior? *J Neuropathol Exp Neurol* 1986; 45: 95-107.
  25. Broder AC. Carcinoma grading and practical applications. *Arch Pathol Lab Med* 1926; 2: 376-81.
  26. Kernohan JW, Maybon RF, Svien HJ, Adson AW. A simplified classification of the gliomas. *Proc Staff Meet Mayo Clin* 1949; 24: 71-5.
  27. Ringertz N. Grading of gliomas. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1950; 27: 51-64.
  28. Jaaskelainen J, Haltia M, Laasonen E, Wahlstrom T, Valtonen S. The growth rate of intracranial meningiomas and its relation to histology. *Surg Neurol* 1985; 24: 165-72.
  29. Mahmood A, Caccamo DV, Tomecek FJ, Malik GM. Atypical and malignant meningiomas: a clinicopathological review. *Neurosurgery* 1993; 33: 955-63.
  30. Chen WYK, Liu HC. Atypical (anaplastic) meningioma: relationship between histologic features and recurrence- a clinicopathologic study. *Clin Neuropathol* 1990; 9: 74-81.
  31. Maier H, Ofner D, Mittmaier A, Kitz K, Budka H. Classic, atypical, and anaplastic meningioma: three histopathological subtypes of clinical relevance. *J Neurosurg* 1992; 77: 616-23.
  32. Jellinger K, Slowik F. Histological subtypes and prognostic problems in meningiomas. *J Neurol* 1975; 208: 279-98.
  33. Thomas HG, Dolman CL, Berry K. Malignant meningioma: clinical and pathological features. *J Neurosurg* 1981; 55: 929-34.
  34. Christensen D, Laursen H, Klinken L. Prediction of recurrence in meningiomas after surgical treatment. A quantitative approach. *Acta Neuropathol* 1983; 61: 130-4.
  35. Parisi JE, Mena H. Nonglial tumors. In: Nelson JS, Parisi JE, Schochet SS, eds. *Principles and practice of neuropathology*. Mosby Year Book: St. Louis, 1993; 203-66.
  36. Boon AP, Sharif H. Value of AgNOR method in predicting recurrence of meningioma. *J Clin Pathol* 1989; 158: 185-8.
  37. Bruner JM, Langford LA, Fuller GN. Neuropathology, cell biology, and newer diagnostic methods. *Curr Opin Oncol* 1993; 5: 441-9.
  38. Miyachi K, Fritzler MJ, Tan EN. Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. *J Immunol* 1978; 121: 2228-34.
  39. Kurki P, Lotz M, Ogata K. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA)/cyclin in activated human T lymphocytes. *J Immunol* 1987; 138: 4114-20.
  40. Diebold J, Lai MD, Lorhs U. Analysis of proliferative activity in colorectal mucosa by immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen (PCNA): Methodological aspects and application to routine diagnostic material. *Virchows Arch* 1992; 62: 283-9.
  41. Burford-Mason AP, MacKay AJ. Detection of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in paraffin-embedded specimens is dependent on pre-embedding tissue handling and fixation. *Arch Pathol Lab Med* 1994; 118: 1007-13.