

# 담관계암종 및 주변 전암병변의 면역조직화학적 특성

연세대학교 의과대학 병리학교실

김 지 영 · 박 영 년 · 김 호 근

## Immunohistochemical Characteristics of Biliary Tract Carcinoma and Its Precancerous Lesions

Jiyoung Kim, Youngnyun Park, and Hogeun Kim

Department of Pathology, Yonsei University College of Medicine, Seoul 120-752, Korea

Carcinomas of the biliary tract are known to be more common in East Asia than in Western countries, but their exact histopathological characteristics and tumorigenesis are not well elucidated. To examine the histological and immunohistochemical characteristics of the biliary tract carcinomas according to their anatomical sites and to elucidate their tumorigenesis, we performed histological review and immunohistochemical study in a total of 135 cases of biliary tract carcinomas; 24 intrahepatic bile duct, 34 gallbladder, 51 common bile duct, and 26 periampullary carcinomas. Precancerous lesions were associated with 5 (20.8%) cases of intrahepatic duct carcinomas (dysplasia 5), 7 (20.6%) cases of gallbladder carcinomas (adenoma 5, dysplasia 2), 10 (19.6%) cases of common bile duct carcinomas (adenoma 7, dysplasia 3), and 2(7.7%)cases of periampullary carcinomas (adenoma 2). Immunohistochemically, c-erbB-2 expression in gallbladder carcinoma (21/34, 62%) was significantly higher than that of intrahepatic (8/24, 33%). Ki-67 indices were higher in common bile duct carcinomas (19%) than those of intrahepatic bile duct (14%) or periampullary carcinomas (12%). Overexpression of p53 gene product in the periampullary carcinomas (20/22, 77%) was higher than that of intrahepatic (12/24, 50%) or common bile duct carcinoma (26/51, 51%). In the precancerous lesions the c-erbB-2 expression was present in 29% of the gallbladder, 20% of the intrahepatic, 10% of the common bile duct precancerous lesions and none of the 2 cases of adenomas in the periampullary region. The p53 overexpression in the precancerous lesions was frequent, ranging from 43% to 60%. These results suggest that a mechanism involving p53 gene mutation and c-erbB-2 gene activation is present in the tumorigenesis in a significant number of the biliary tract carcinomas and they may be the early events in the tumorigenesis of the biliary tract carcinomas. (**Korean J Pathol 1998; 32: 985~992**)

**Key Words:** Biliary tract carcinoma, CEA, p53, Ki-67, c-erbB-2

### 서 론

담관계는 간내 담도, 간의 담도, 총수담관, 담낭과 담

관팽대부를 포괄하는 해부학적으로 서로 긴밀히 위치하는 일련의 구조로서, 발생학적으로도 그 기원이 같거나 연관되어 있으며 조직학적으로도 유사한 점이 많다. 한국과 일본을 포함한 극동아시아에서 담관계암의 발생률은 대체로 서구에 비해 높은 것으로 알려져 있으나<sup>1</sup> 담관계암에 대한 발생 기전, 조직학적 특징 등에 대해서는 자세한 연구가 많지 않으며 이는 서구에서도 마찬가지이다. 일반적으로 암발생은 형태학적이거나 유전적으로 여러 단계의 변화가 축적되어 최종적으로 악성암이 된다고 알려져 있다. 즉 암발생 과정의 시기별로 종양

접 수: 1997년 12월 27일, 게재승인: 1998년 8월 18일  
주 소: 서울시 서대문구 신촌동 134번지, 우편번호 120-752  
연세대학교 의과대학 병리학교실, 김지영

ISSN : 0379-1149

\*본 연구사업의 일부는 1996년도 보건 복지부에서 시행한 보건 의료기술 연구개발사업(HMP-96-M-2-1019)의 지원으로 이루어졌음.

유전자와 종양 억제유전자가 복합적으로 작용하여 암을 일으킨다는 것이며 이는 특히 대장암에서의 연구를 통하여 잘 정립되어 있다. 대장암의 분자생물학적 연구에 의하면 암발생과정중 K-ras<sup>2</sup>과 같은 종양유전자의 활성화, adenomatous polyposis coli (APC) gene,<sup>3</sup> deleted colon cancer (DCC) gene<sup>4</sup> 및 p53 유전자<sup>5</sup>와 같은 종양 억제유전자의 비활성화가 함께 작용하는 것으로 알려져 있는데 각 유전자마다 변화되는 특이한 시기가 있어 최종적인 암발생은 여러 유전자들의 단계적 변화에 의한 것임을 알 수 있다. 담관계 역시 타장기처럼 악성암으로 진행되는 과정에 수많은 단계가 있을 것으로 추정되지만 아직까지 정확한 병변 및 진단 기준이 밝혀지지 않았다. 이는 담관계암이 그 해부학적인 특성상 진단적 접근이 용이하지 않고 대개 분화가 좋아 조직학적인 진단이 쉽지 않으며, 주로 침윤성 성장을 하여 큰 종괴를 형성하는 경우가 드물어 연구에 필요한 충분한 종양 조직을 얻는 것이 어렵기 때문이라고 생각된다. 따라서 담관계암의 각 부위별 조직학적 특징의 유사성과 차이점, 각 부위에서의 전암 단계등 초기 병변의 존재 유무, 암의 발생에 관여하리라고 예상되는 유전적 변화의 단계별 차이 등에 대한 연구는 앞으로 담관계 종양의 발생기전을 밝히는데 매우 중요하다.

이제까지 담관계암에서의 연구결과를 살펴보면 간내담도와 간외담도, 담낭암, 담관팽대부암에서의 전암병변에 대한 연구들에서 화생이나 이형성 등의 조직학적 변화가 전암병변이 될 수 있음이 제시되었고,<sup>6-14</sup> 이형성, 선종 등의 전암병변이 소수레이지만 담관계암에서 존재함이 보고되기도 하였다.<sup>14-18</sup> 또, 대부분의 간내, 간외담도암과 담낭암 및 그 전구병변에서 암배아성 항원인 CEA가 양성임을 밝힌 연구들<sup>11,19-21</sup>이 있다.

담관계 종양에서 일어나는 유전학적 변화에 대한 연구 역시 아직은 초기 단계로서 타장기의 종양처럼 K-ras 유전자나 p53 유전자의 돌연변이가 자주 동반된다는 것이 알려져 있어<sup>22-24</sup> 담관계 종양에서도 종양유전자와 종양억제 유전자가 함께 작용하는 암발생의 기전이 있으리라고 여겨진다.

잘 알려진 종양 억제유전자인 p53 유전자는 DNA복제, 세포증식과 세포사를 조절하는 핵 인단백으로 유전자의 손상을 받은 세포의 고사 (apoptosis)를 유발하여 종양 억제유전자로서의 작용을 하는 것으로 알려져 있다. p53 유전자의 돌연변이는 이러한 작용 등에 변화를 가져옴으로써 암발생에 중요한 역할을 하며, 또 세포증식을 촉진한다는 것이 대장암, 유방암, 폐암 등에서의 p53 단백질의 과표현과 Ki-67이나 proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 같은 세포 증식지수와 상호 관련성에 대한 연구에서 잘 밝혀진 바 있다.<sup>25</sup> 담관계 암에서도 p53 종양 억제유전자의 돌연변이가 상당수에서 일어난다는 것이 알려져 있고,<sup>27-31</sup> 또 Ki-67 등의 세포 증식지수도 양성병변에 비해 의의있게 높다는 것이 보고된 바 있으나<sup>32</sup> p53와 Ki-67의 상호 관련성에 대한 연구는 없

으며, 담관계암의 부위에 따른 차이나 유사성에 대한 비교 연구는 거의 없다.

c-erbB-2는 EGF receptor family의 하나로 tyrosine kinase activity를 갖는 185KD의 세포막 당단백을 만드는 유전자이다. c-erbB-2 종양유전자는 여러 종류의 암종 특히 선암종에서 활성화되는 것으로 알려져 있는데 이는 유방암, 난소암, 방광암 등의 연구에서 이미 잘 밝혀진 바 있으며<sup>33-35</sup> p53 종양 억제유전자와 동시 발현되기도 한다는 것이 유방암, 방광암 등에서 보고된 바 있다.<sup>34,35</sup> 담관계암에서도 담관 팽대부암에서 c-erbB-2와 Ki-67 지수가 환자의 불량한 예후와 상관성이 있다는 보고<sup>36</sup>와 담낭암에서 p53와 c-erbB-2가 소수에서지만 동시 발현된다는 보고<sup>28</sup>가 있으나 담관계의 다른 부위에서의 연구나 부위별 유사성이나 차이에 대한 비교 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 담관계암의 발생기전 규명을 위해 체담관계암을 해부학적 부위에 따라 담낭암, 간내 담관암, 총수담관암, 담관팽대부 및 체암으로 구분하고 각 부위별로 전암병변의 존재유무, 조직학적 특징, 면역조직화학적 특성 등을 조사해 전암 단계와 암간의 상호 유사성과 차이점을 분석해 담관계암의 발생의 가능한 기전들을 밝혀 보고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

연세대학교 의과대학 병리학교실에서 1990년부터 1996년까지 진단되고 절제된 담관계암 총 174예 중 발생부위가 명확하고 조직절편의 보존이 양호한 135예를 대상으로 하였으며 이들을 다시 그 부위에 따라 간내담도암(24예), 담낭암(34예), 간외담도암(51예), 그리고 담관팽대부암(26예)로 나누었다.

### 2. 연구방법

1) 병리조직학적 검색: 병리조직학적 검색은 10% 중성 포르말린에 12시간 이상 고정 후 일련의 과정을 거쳐 파라핀에 포매하여 보관된 조직을 이용하였다. 각 예에서 H&E 염색된 유리 슬라이드를 모두 검색하여 악성 병변의 주위에 선종이나 이형성이 동반되어 있는지 조사하였다. 이형성은 상피세포의 가성중첩, 핵의 형태와 크기, 핵의 과염색성, 유사분열, 선구조의 분지형태의 복잡성 등을 기준으로 하였고, 대개 이형성이 있는 경우 상피세포의 증식으로 인하여 내강쪽으로 작은 유두상 구조를 보이기도 하였다. 이러한 이형성을 보이는 세포의 군집이 뚜렷한 종괴의 형태를 갖추었을 때는 선종으로 하였다. 담낭에서의 선종은 비정상적인 상피의 증식으로 형성된 종괴로 이전에 관형 선종 혹은 유두상 선종으로 불리는 것을 모두 포함하여 선종으로 하였고 종괴 형성없이 점막 상피의 이형성만을 보이는 경우는 따로 구분하였다.

2) 면역조직화학적 검색: 병리조직학적 검색을 통하여 종양이 충분히 포함된 블록을 선택하였으며, 주변에 선종이나 이형성이 동반된 경우에는 종양과 주변 병변이 동시에 포함되도록 블록을 택하거나 부득이한 경우는 두개의 다른 블록을 선택하여 5  $\mu$ m의 연속 절편 4장씩을 xylene으로 파라핀을 제거하고 에틸알콜에서 단계적으로 함수한 후 citrate buffer가 포함된 용기 내에서 microwave로 5분간 2회 가열하여 항원 회복 (retrieval)을 시도한 뒤 labelled streptavidin-biotin 방법으로 LSAB kit (DAKO, Capentaria, CA, USA)를 이용하여 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 일차 항체로는 항 CEA 복합클론 항체 (DAKO, Capentaria, CA, USA), 항 p53 단클론 항체 (Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK), 항 Ki-67 단클론 항체 (DAKO, Capentaria, CA, USA) 및 항 c-erbB-2 단클론 항체 (Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK)을

사용하였으며, 각각의 희석 배율은 1 : 100, 1 : 70, 1 : 100, 1 : 100으로 하여 상온에서 한 시간 반응시킨 후 4°C에서 overnight하였다. AEC (3-amini-9-ethyl-carbazole) chromogen을 이용하여 발색한 후 Meyer's hematoxylin으로 대조염색하였다. CEA는 한 고배율시야 이상의 범위에서 선구조의 내강에 연하여 세포막에 염색되거나 혹은 세포질에 염색되는 경우를 양성으로 판정하였다 (Fig. 1). Ki-67에 대한 염색에서는 핵에 진하게 붉은 색 또는 자주색으로 염색되는 경우를 양성으로 보았고 (Fig. 2) p53의 경우는 5% 이상의 세포에서 핵에 염색되는 경우를 양성으로 판단하였다 (Fig. 3). Ki-67 지수는 고배율시야 (x400)에서 종양세포 1000개를 세어 그 중 Ki-67 염색에 양성 반응을 보이는 세포의 수로 정의하였다. c-erbB-2 단백질에 대한 염색은 5% 이상의 세포에서 뚜렷하게 세포막에 염색되는 경우에만 양성으로 간주하였

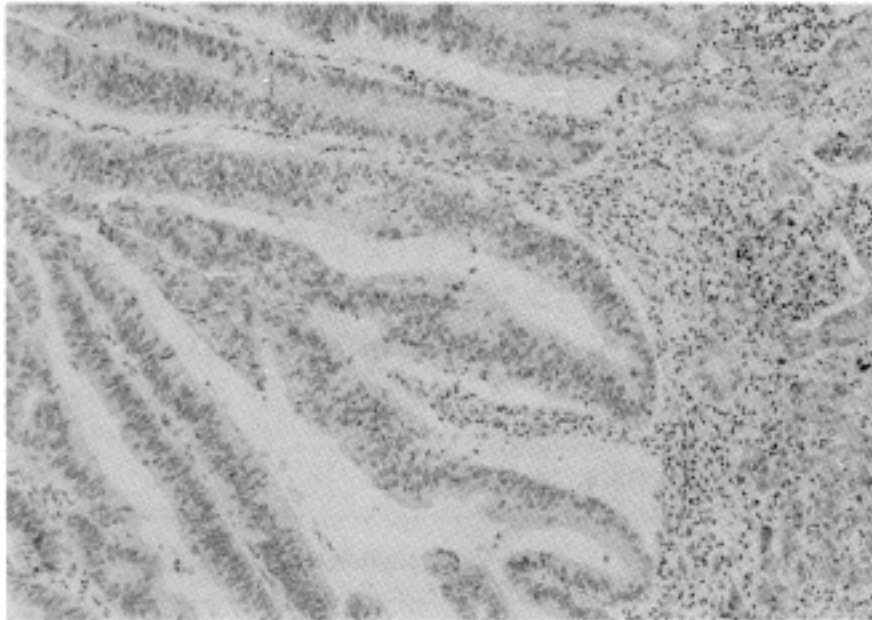


Fig. 1. CEA expression in common bile duct carcinoma. In the adenomatous area, the expression is predominantly confined to the luminal border. In the infiltrating tumor area, cytoplasmic positivity is evident.

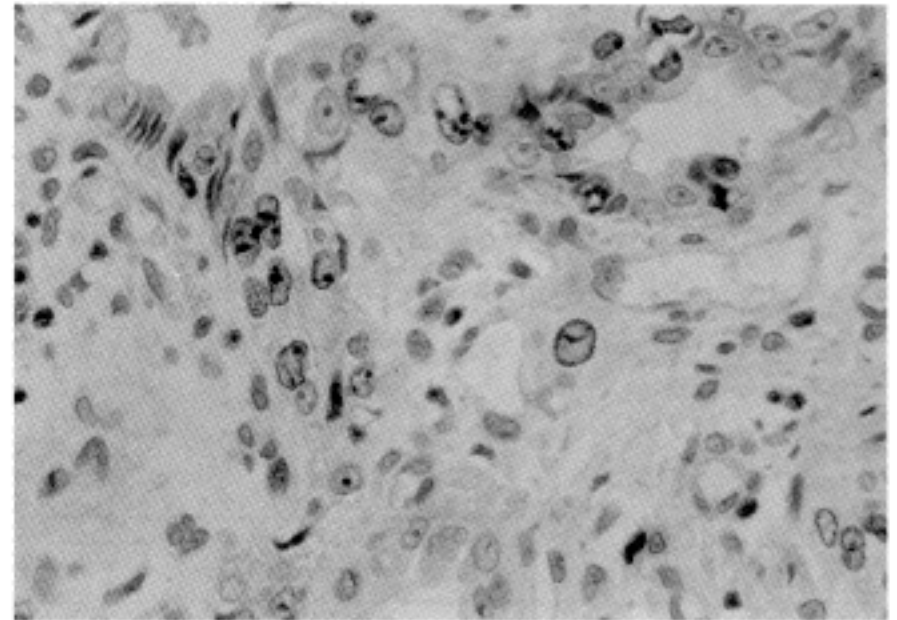


Fig. 2. Immunohistochemical staining of Ki-67 in pancreatic carcinoma. Ki-67 positive nuclear staining is seen in some of the tumor cells.

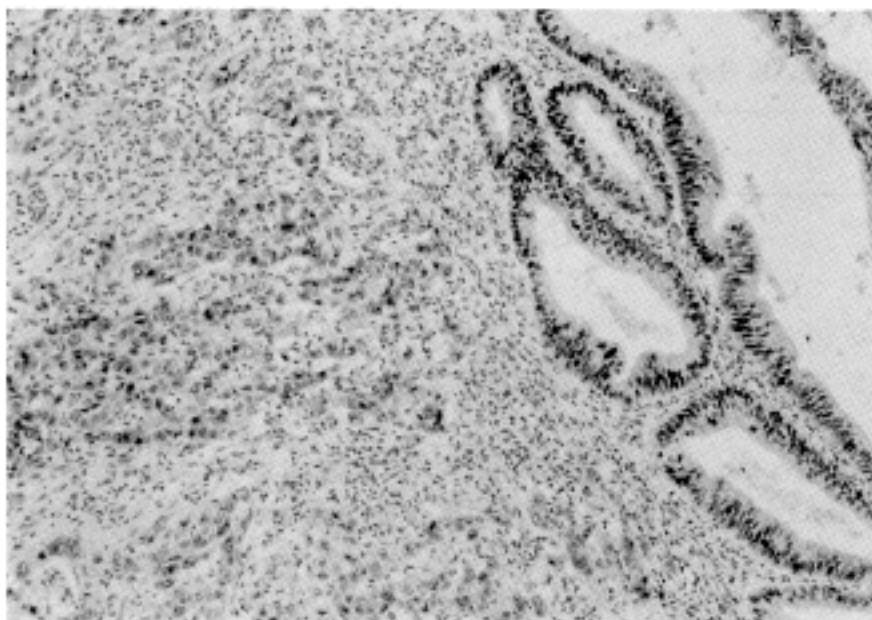


Fig. 3. p53 immunostaining in common bile duct carcinoma. Intense nuclear expression of the tumor cells is demonstrated.

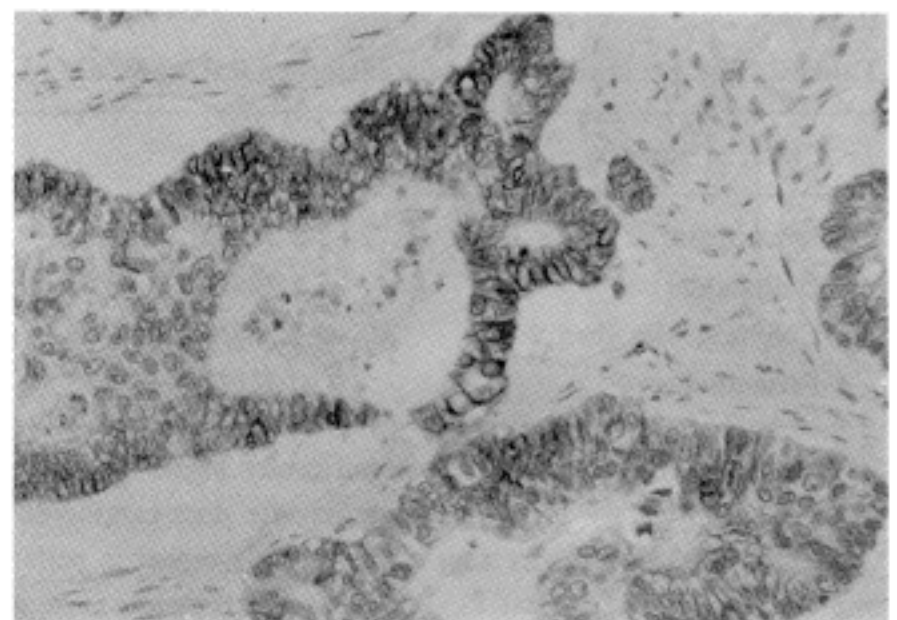


Fig. 4. c-erbB-2 immunostaining in gallbladder carcinoma. Crisp and intense membrane staining is noted in the tumor cells.

다 (Fig. 4).

3. 통계학적 검색

모든 자료의 통계분석은 SAS (Statistical Analysis System) 프로그램을 이용하여  $\chi^2$ -test, ANOVA, t-test를 적용하였다.

결 과

1. 담관계암의 부위별 분류와 각 군에서의 임상적, 병리조직학적 특성 (Table 1)

전체 135예 중 간내담도암이 24예, 담낭암이 34예, 간외담도암이 51예, 담관팽대부암이 26예였다. 환자의 평균 연령은 58.0세였으며 각 군간에 큰 차이는 없었다.

간내담도암 24예에서 환자의 평균 연령은 52세이며 남녀비는 0.9 : 1이었다. 전체 24예 중 주담도형 (major duct type)이 5예였다. 이 5예 모두에서 상피세포의 이형성을 종양의 주변부에서 관찰할 수 있었고 이 중 4예는 간내 담도 결석이 동반된 경우였다.

담낭암 34예에서 환자의 평균 연령은 60세이며 남녀비는 1 : 2로 여자가 2배였다. 32예는 선암종이였으며, 2예는 미분화암종이었다. 선암종의 1예에서는 부분적으로 편평상피세포 분화를 보이는 곳이 관찰되었다. 7예에서 선종 (5예)과 이형성(2예)을 종양의 주변부에서 관찰할 수 있었으며, 이 경우 선종은 관형 선종 (tubular

adenoma, 3예)과 유두형 선종 (papillary adenoma, 2예)이었다.

간외담도암은 총 51예였으며, 평균 연령은 61세, 남녀비는 1.7 : 1였다. 1예는 선편평세포암종 (adenosquamous carcinoma)이었다. 10예에서 선종 (7예)과 이형성 (3예)을 종양의 주변부에서 관찰할 수 있었는데 선종의 경우 용모상 선종 (villous adenoma)이 많았고 (5/7예, 71%) 2예는 관형 선종이었다.

담관 팽대부암 26예에서 평균 연령은 55세, 남녀비는 1.4 : 1이었으며, 2예에서 관형용모상 선종 (tubulovillous adenoma)이 있었다.

2. 담관계암의 부위별 분류에 따른 면역조직화학적 특성 (Table 2)

1) 담관계암의 부위별 분류에 따른 CEA (carcinoembryonic antigen)양성도: CEA염색에서 부위에 따라 양성 반응을 보인 예의 빈도는 간내담도암, 담낭암, 간외담도암, 그리고 담관 팽대부암에서 각각 24예 중 21예 (88%), 34예 중 29예 (85%), 51예 중 48예 (94%)와 26예 중 26예 (100%)였으며 담관 팽대부암에서의 양성률은 담낭암에 비해 유의있게 높았으나 (p<0.05) 그 외 다른 군간의 양성률의 유의있는 차이는 보이지 않았다.

2) 담관계암의 부위별 분류에 따른 Ki-67지수: 평균 Ki-67 지수는 간내담도암, 담낭암, 간외담도암, 그리고 담관 팽대부암에서 각각 14.2, 14.7, 19.0, 그리고 12.5%

Table 1. Clinical features of biliary tract carcinomas according to their sites

Site of tumor	No. of cases	Age	Sex (M : F)	Dysplasia/adenoma remnant (%)
Intrahepatic	24	52	0.9 : 1	5 (20.8%)/0 (0.0%)
Gallbladder	34	60	0.5 : 1	2 (5.8%)/5 (14.7%)
Common bile duct	51	61	1.7 : 1	3 (5.9%)/7 (13.7%)
Periampullary	26	55	1.4 : 1	0 (0.0%)/2 (7.7%)

Table 2. The positivity of immunohistochemical stain according to the site of the tumor (Numbers of positive cases/Total numbers)

Site of tumor	CEA <sup>1</sup>	Ki-67 <sup>**2</sup>	p53 <sup>3</sup>	c-erbB-2 <sup>5</sup>
Intrahepatic	87.5 (21/24)	14.2 <sup>2</sup>	50.0 (12/24) <sup>3</sup>	33.3 (8/24) <sup>4</sup>
Gallbladder	85.3 (29/34) <sup>1</sup>	14.7	58.8 (29/34)	61.8 (21/34) <sup>4</sup>
Common bile duct	94.1 (48/51)	19.0 <sup>2</sup>	51.0 (26/51) <sup>3,5</sup>	47.1 (24/51) <sup>5</sup>
Periampullary	100.0 (26/26) <sup>1</sup>	12.5 <sup>2</sup>	77.0 (20/26) <sup>3</sup>	38.5 (10/26)

<sup>1</sup>: The rate of CEA positivity is significantly higher in periampullary carcinoma than in gallbladder carcinoma (p=0.004), <sup>2</sup>: Ki-67 index is significantly higher in common bile duct carcinoma than in cholangiocarcinoma (p=0.035) or in periampullary carcinoma (p=0.002), <sup>3</sup>: p53 overexpression is significantly higher in periampullary carcinoma than in cholangiocarcinoma (p=0.048) or in common bile duct carcinoma (p=0.028), <sup>4</sup>: c-erbB-2 expression is significantly higher in gallbladder carcinoma than in cholangiocarcinoma (p=0.033), <sup>5</sup>: In common bile duct carcinoma, the positivity of p53 correlates to the positivity of c-erbB-2 (p=0.007), \*: percentage of positive cases to the total number of the cases of the corresponding site (%), \*\*: mean value of the Ki-67 indices (%)

였다. 간외담도암의 경우가 간내 담도암이나 담관 췌대부암에서 보다 유의있게 높았으나 ( $p < 0.05$ ) 그 외 다른 군간의 Ki-67 지수는 유의있는 차이를 보이지 않았다.

**3) 담관계암의 부위별 분류에 따른 p53단백의 과발현:** 간내 담도암, 담낭암, 간외 담도암, 그리고 담관 췌대부암에서의 p53 과발현을 보인 예의 빈도는 각각 24예 중 12예 (50%), 34예 중 29예 (59%), 51예 중 26예 (51%), 그리고 26예 중 20예 (77%)였다. 담관 췌대부암에서 간내 담도암이나 간외 담도암의 경우보다 유의있게 높았고 ( $p < 0.05$ ) 다른 군간에는 양성률의 유의있는 차이를 보이지 않았다.

**4) 담관계암의 부위별 분류에 따른 c-erbB-2 양성도:** c-erbB-2염색상 양성 염색을 보인 예의 빈도는 간내 담도암, 담낭암, 간외 담도암, 그리고 담관 췌대부암에서 각각 24예 중 8예 (33%), 34예 중 21예 (62%), 51예 중 24예 (47%), 그리고 26예 중 10예 (38%)였다. 담낭암에서의 경우가 간내 담도암보다 유의있게 높았다 ( $p < 0.05$ ). 그 외 다른 군간에는 양성률의 유의있는 차이는 없었다.

**5) 각 군에서 CEA, Ki-67 지수, p53유전자 단백질의 과발현, c-erbB-2 단백질 발현의 상관관계:** 간외 담도암에서 p53 유전자 단백질의 과발현은 c-erbB-2 단백질 발현과 유의있는 상관관계가 있었다 ( $p < 0.05$ ). 그 외에는 각 군에서 CEA양성도, Ki-67 지수, p53단백의 과발현, c-erbB-2 단백질 발현 간의 유의있는 상관관계는 보이지 않았다.

**3. 담관계암 각 부위의 전암병변에서의 면역조직화학적 특성**

**1) 간내담도암에서의 전암병변의 면역조직화학적 특성:** 5예의 모든 이형성병변에서 CEA양성 염색을 보였고, Ki-67 지수는 5.8%로 동일 예의 악성병변에서 보다 낮았다. 3예 (60%)에서 p53단백 과발현을 보였으며 c-erbB-2에 양성을 보인 예도 1예 (20%) 있었다 (Table 3).

**2) 담낭암에서의 전암병변의 면역조직화학적 특성:** 5예의 선종과 2예의 이형성 등 총 7예의 전암병변에서 CEA는 6예에서 양성으로 동일 예의 악성병변과 양성률이 일치하였으나 그 염색정도가 보다 국소적이고 미약

하였다. Ki-67 지수는 악성 병변에 비해 큰 차이가 없었으며 p53은 3예에서 과발현을 보여 동일 예의 악성 병변보다 1예가 적었다. c-erbB-2는 2예에서 양성으로 악성 병변에서 양성을 보인 예와 같았다 (Table 4).

**3) 간외담도암에서의 전암병변의 면역조직화학적 특성:** 총 10예의 전암병변 중 (선종 7예, 이형성 3예) CEA는 7예에서 양성이었으며, 악성 병변의 8예보다 1예 적었고 대체로 국소적이거나 미약한 염색 양상을 보였다. Ki-67 지수는 18.7%로 악성병변 (22.5%)에 비해 낮았지만 통계적 차이는 보이지 않았다. p53단백은 전예에서 양성이었으며 동일예의 악성병변과 차이를 보이지 않았다. c-erbB-2염색에서는 1예에서만 양성으로 악성병변의 양성률 (4예, 40%)에 비해 낮았으나 통계적 차이는 없었다 (Table 5).

**4) 담관 췌대부암에서의 전암 병변의 면역조직화학적 특성:** 2예의 선종에서 모두 CEA양성이었다. Ki-67 지수는 19.2%로 18.1%인 동일 예의 악성 병변보다 조금 높

**Table 4.** Immunohistochemical results of 7 precancerous lesions in gallbladder

	Dysplasia and/or adenoma (%)	Carcinoma (%)
CEA	6 (85.7)	6 (85.7)
Ki-67 index	13.9	13.3
p53	3 (42.9)	4 (57.1)
c-erbB-2	2 (28.6)	2 (28.6)

**Table 5.** Immunohistochemical results of 10 precancerous lesions in common bile duct

	Dysplasia and/or adenoma (%)	Carcinoma (%)
CEA	7 (70)	8 (80)
Ki-67 index	18.7	22.5
p53	5 (50)	5 (50)
c-erbB-2	1 (10)	4 (40)

**Table 3.** Immunohistochemical results of 5 precancerous lesions in intrahepatic carcinoma

	Dysplasia(%)	Carcinoma(%)
CEA <sup>1</sup>	5/5(100)	5/5(100)
Ki-67 index	5.8	16.0 <sup>2</sup>
p53	3/5(60)	3/5(60)
c-erbB-2	1/5(20)	2/5(40)

<sup>1</sup>: CEA: carcinoembryonic antigen  
<sup>2</sup>: mean value of the Ki-67 indices

**Table 6.** Immunohistochemical results of 2 precancerous lesions in periampullary carcinoma

	Adenoma (%)	Carcinoma (%)
CEA	2 (100)	2 (100)
Ki-67 index	19.2	18.1
p53	1 (50)	1 (50)
c-erbB-2	0	0

았지만 큰 차이는 없었다 ( $p > 0.05$ ). 1예에서 전암 병변과 악성 병변 모두에서 p53에 양성되었고 c-erbB-2에 양성인 예는 없었다 (Table 6).

## 고 찰

담관계암의 초기 병변 및 발생 기전은 지금까지 자세히 알려지지 않았다. 그러나 이전의 몇몇 연구에서 화생, 특히 장형 화생 (intestinal metaplasia)이나 이형성 등이 전암 병변이 될 수 있음이 제시된 바 있으며,<sup>6-14</sup> 선종 등의 전암병변이 소수레이지만 담관계암에서 존재함이 보고되기도 하였다.<sup>15,17</sup> 본 연구에서도 많은 경우 종양의 주변부에서 장형 화생을 관찰할 수 있었으며 대개 장형 화생은 상피 세포 증식과 동반되어 있어 양성 반응성 병변이라 생각되었다. 악성 종양의 주변부에서 따로 혹은 종양과 연결되어 선종이 관찰되기도 하였는데 관형 선종이거나 유두상 선종, 또는 음모상 선종이었다. 선종의 일부에서 상피 세포가 비정형이면서 사이의 간질이 없이 증식하는 부분이 관찰되었으며 뚜렷한 악성 변화를 보여 선종에서 악성 종양이 발생한 것으로 생각되는 예도 있었다. 종괴 형성없이 상피 세포의 이형성을 보이는 예도 있었는데 이형성의 병리조직학적 소견은 Laitio 등<sup>7,8</sup>이 보고한 바와 유사하여 가상중첩 (pseudostratification), 핵/세포질 비의 증가, 유사분열, 도핵의 과염색성 등을 보였다. 소수의 예에서는 이형성이 심하여 상피내암과 감별하기 어려운 경우도 있었다. 또 이형성이나 선종이 동반되어 있는 경우 대부분 주변에서 장형 화생이 관찰되어 대개의 장형 화생이 양성 반응성 병변이지만 적어도 소수에서는 선종 발생, 이형성 등의 과정을 거쳐 악성 종양의 발생에 기여한다고 생각된다.

CEA 종양 항원에 대한 면역 조직화학적 염색 결과에서 담관계암은 담관 췌대부암에서 더 많은 수에서 양성 염색을 보였으나 부위에 따른 뚜렷한 차이는 없었다. 선종이나 이형성 병변에서도 70%에서 100%의 예에서 양성 염색을 보였으나 악성 병변 부위에 비해 상대적으로 국소적이거나 미약한 염색 양상을 보였다. 그러나 악성 병변에서도 음성을 보인 예 (12예)가 있고, 양성 예에서도 부분적으로 미약한 양성 염색만을 보이는 예도 있었다. 소수 (6예)에서는 정상 점막 상피에서도 선구조의 내강을 따라 국소적인 양성을 보였으나 그 부위가 주로 조직 절편의 가장자리여서 확산에 의한 비특이적 염색일 가능성이 있다고 보았다. 장형 화생부위에서 양성을 보인 예는 없었다. 이러한 결과는 이전의 보고들<sup>11,19,21,22</sup>과 잘 일치하는 것으로 CEA 염색이 병변의 악성도가 진행할수록 강해지기는 하지만 염색의 양성도만으로 이형성 등의 전암 병변과 악성 병변을 구별하기는 어려우리라 생각된다.

Ki-67 지수는 세포 증식의 한 지표로 악성 종양에서 양성 병변에 비해 의의있게 높다. 담관계암에서 Ki-67

지수에 대한 이전의 연구를 보면 담낭암에서 Ki-67 지수가 간외담도암이나 담관 췌대부암에서 보다 높고 불량한 예후와 상관관계가 있는 것으로 나타났다.<sup>9</sup> 본 연구에서는 간외 담도암에서 간내 담도암이나 담관 췌대부암에 비해 의의있게 높았으나 그 외 부위간에는 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. 전암병변과 악성 병변에서의 차이를 보면 간내 담도암과 간외 담도암에서는 악성 병변이 전암병변에 비해 더 높은 Ki-67 지수를 보였으나 담낭암에서는 큰 차이가 없었고, 담관 췌대부암에서는 선종에서 조금 더 높은 Ki-67 지수를 보였다. 그러나 증례의 수가 적어 의의를 생각하기는 어렵다. 장형 화생부위를 포함한 주변 정상 점막에서도 항Ki-67 항체에 핵이 양성으로 염색되는 세포가 있기는 하였지만 그 수가 0.01% 미만으로 극히 적었다.

상당수의 담관계암에서 p53 과발현이 나타남이 다수의 연구에서 이미 밝혀져 있으며 양성률은 37%에서 92%까지로 본 연구에서의 결과 (50~77%)와 대개 일치하였다.<sup>27-31,37,38</sup> 부위별 차이를 보면 담관 췌대부암이 간내 담도암이나 간외 담도암에 비해 높은 양성률을 보였다. 전암병변과 악성 병변에서의 p53단백 양성은 동일 증례에서는 큰 차이가 없었으나 (Table 3~6) 전체 담관계암에서의 양성률에 비해서는 낮다. 이는 전암병변에서 악성 병변에 비해 낮은 p53단백 양성도를 보고한 이전의 연구<sup>28,31</sup>와 일치한다. 장형 화생부위나 정상 점막에서 양성인 예는 없었다. 따라서 상당수의 담관계암에서 p53 유전자의 돌연변이가 관여되는 발암 기전이 존재한다고 생각되며 전암병변의 상당수도 p53단백에 양성인 점으로 미루어 보아 p53 돌연변이는 암형성의 비교적 초기에 발생한다는 이전의 가설을 재확인 할 수 있었다.

담관계암에서의 c-erbB-2 단백 증폭에 대해서는 약 10%의 담낭암에서 c-erbB-2가 양성임을 보고한 연구<sup>28</sup>가 있을 뿐 담관계 다른 부위에서의 연구나 전암 병변에서의 비교 등에 대한 이전 연구는 거의 없다. 본 연구에서는 췌장암에서는 9%에서 c-erbB-2 단백질에 양성 염색을 보여서 가장 낮았으며 담낭암이 61.76%로 가장 높은 양성률을 보였다. 연구의 대상이 된 증례의 수가 비슷한 점을 고려할 때 높은 정도의 양성률이라 생각된다. 또한 대다수의 담관계암에서 c-erbB-2의 미만성의 세포질 염색상을 볼 수 있었는데 c-erbB-2 단백질이 세포막에 존재하는 점을 생각할 때 양성으로 판단해서는 안 될 것으로 생각된다. 전암병변에서의 c-erbB-2 염색에서는 담낭암에서 29%로 가장 높았고 담관 췌대부암에서는 0%였다. 동일 예의 악성 병변에서는 간내 담도암과 간외 담도암에서 악성 병변이 더 높은 양성률을 보였으며 전체 예의 담관암에서는 전암 병변보다 훨씬 높은 양성률을 나타내었다. 소수이지만 본 연구에서 전암병변에서의 c-erbB-2 양성 염색은 담낭암의 이형성에서 c-erbB-2가 양성인 예가 없다고 한 Kamel 등<sup>28</sup>의 보고와는 다른 결과로 c-erbB-2 활성이 담관계암의 발생에서 늦

게 일어난다고 하는 그들의 주장과는 달리 암발생의 초기에도 관여한다는 가능성을 제시한다. 그러나 이형성의 진단기준이 아직 정확히 확립되어 있지 않아 대상에 차이가 있을 가능성도 배제할 수 없다. 이형성 단계에서 c-erbB-2가 양성일 수 있음은 자궁 경부암의 전구 병변에서는 이미 보고된 바 있다.<sup>39</sup> c-erbB-2 역시 주변 장형 화생부위나 정상 점막에서 양성인 예는 없었다.

CEA나 Ki-67 지수, p53단백 과발현 간의 유의한 상관관계는 없었으나 간외 담도암에서 p53단백 과발현과 c-erbB-2 양성 염색률은 유의있는 상관관계가 있어 p53 유전자의 돌연변이와 c-erbB-2 활성이 같이 관여하는 암발생의 기전이 적어도 일부의 담관계암에서 존재한다고 생각된다.

이상의 결과들을 종합하여 볼 때 담관계암의 상당수에서 p53 유전자의 돌연 변이와 c-erbB-2 활성이 관여되는 암발생의 기전이 존재하며 소수이지만 전암병변에서도 이러한 변화가 일어나므로 이는 담관계암의 발생에 있어 비교적 초기 변화라고 생각된다. 앞으로 전암 병변과 악성 병변에서의 차이는 더 많은 증례를 바탕으로 전암 병변의 병리조직학적, 면역조직화학적 특성을 파악하여 암의 전구 단계 혹은 발생 초기 단계에서의 진단에 도움이 될 수 있도록 연구가 지속되어야 할 것이며 이러한 유전자 단백질 과발현이 환자의 예후와 연관이 있는지에 대해서도 연구가 필요하리라 생각된다.

## 결 론

담관계암의 부위별 특성 및 차이와 그 발생 기전을 알기 위해 총 135예의 간내 담도암, 담낭암, 간외담도암, 그리고 담관 팽대부암을 대상으로 병리조직학적 검색과 CEA, Ki-67, p53, c-erbB-2 단백질에 대한 면역조직화학적 검색을 시행하였다. 전암 병변은 부위별로 간내 담도암에서 이형성 5예 (20.8%), 담낭암에서는 선종 또는 이형성이 7예 (20.6%), 간외 담도암에서는 선종 또는 이형성이 10예 (19.6%), 담관 팽대부암에서 선종 2예 (7.7%)가 악성 병변의 주변부에 존재하였다. 담관계 암종에서 c-erbB-2 발현은 부위에 따라 9%에서 62%였고 p53과발현은 50%에서 77%였다. 전암 병변에서의 c-erbB-2 발현은 담낭에서 29%, 간내담도에서 20%, 간외 담도에서 10%였으며 담관 팽대부 병변에서는 관찰되지 않았다. 전암병변에서의 p53 과발현은 부위에 따라 43%에서 60%로 높게 관찰되었다. 따라서 상당수의 담관계암에서 p53 유전자의 돌연변이와 c-erbB-2 유전자의 활성이 관여하는 암발생의 기전이 있다고 생각되며 전암 병변에서도 이러한 변화가 존재하는 것으로 보아 이는 암발생 단계의 초기부터 일어난다고 생각된다.

## 참 고 문 헌

1. Parkin DM, Ohshima H, Srivatanakul P, Vatanasapt V.

Cholangiocarcinoma: epidemiology, mechanism of carcinogenesis and prevention. *Cancer Epid Biom Prev* 1993; 2: 537-44.

2. Bos JL, Fearon ER, Hamilton SR, et al. Presence of ras gene mutations in human colorectal cancers. *Nature* 1987; 327: 293-7.

3. Kinzler KW, Nilbert MC, Vogelstein B, et al. Identification of a gene located at chromosome 5q21 that is mutated in colorectal cancers. *Science* 1991; 251: 1366-70.

4. Fearon ER, Vogelstein B: A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990; 61: 709-67.

5. Baker SJ, Fearon ER, Nigro JM, et al. Chromosome 17 deletion and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science* 1989; 244: 217-21.

6. Albores-Saavedra J, Alcantra-Vazquez A, Cruz-Ortiz H, Herrera-Goepfert R. The precursor lesions of invasive gallbladder carcinoma. *Cancer* 1980; 45: 919-27.

7. Laitio M. Histogenesis of epithelial neoplasm of human gall bladder I. *Pathol Res Pract* 1983a; 178: 51-6.

8. Laitio M. Carcinoma of extrahepatic bile ducts. *Pathol Res Pract* 1983b; 178: 67-72.

9. Kozuka S, Kurashina M, Tsubone M, Hachisuka K, Yasui A. Significance of intestinal metaplasia for the evolution of cancer in the biliary tract. *Cancer* 1984a; 54: 2277-85.

10. Kozuka S, Tsubone M, Hachisuka K. Evolution of carcinoma in the extrahepatic bile ducts. *Cancer* 1984b; 54: 65-72.

11. Yamamoto M, Nakajo S, Tahara E. Dysplasia of the gallbladder. *Pathol Res Pract* 1989; 185: 454-60.

12. Duarte I, Llanos O, Domke H, Harz C, Valdivieso V. Metaplasia and precursor lesions of gallbladder carcinoma. *Cancer* 1993; 72: 1878-84.

13. 유은실, 김용일, 이상국. 담낭 점막에 있어서의 화생성 변화에 관한 조직구축학적 고찰. *대한병리학회지* 1985; 19: 58-66.

14. 장희진, 서정일. 담낭의 증식, 화생 및 이형성과 선암종과의 관련성에 관한 연구. *대한병리학회지* 1997; 31: 527-37.

15. Kozuka S, Tsubone M, Yamaguchi A, Hachisuka K. Adenomatous residue in cancerous papilla of Vater. *Gut* 1981; 22: 1031-34.

16. Baczako K, Buchler M, Berger HG, Kirkpatrick J, Haferkamp O. Morphogenesis and possible precursor lesions of invasive carcinoma of the papilla of vater. *Hum Pathol* 1985; 16: 305-10.

17. Rosenberg J, Welch JP, Pyrtek L, Walker M, Trowbridge P. Benign villous adenomas of the ampulla of Vater. *Cancer* 1986; 58: 1563-8.

18. Kurashina M, Kozuka S, Nakasima N, Hirabayasi N, Ito M. Relationship of intrahepatic bile duct hyperplasia to cholangiocellular carcinoma. *Cancer* 1988; 61: 2469-74.

19. Albores-Saavedra J, Nadji M, Morales AR, Henson DE. Carcinoembryonic antigen in normal, preneoplastic and

- neoplastic gallbladder epithelium. *Cancer* 1983; 52: 1069-72.
20. Davis RI, Sloan JM, Hood JM, Maxwell P. Carcinoma of the extrahepatic biliary tract: a clinicopathological and immunohistochemical study. *Histopathology* 1988; 12: 623-31.
  21. Maxwell P, Davis RI, Sloan JM. Carcinoembryonic antigen (CEA) in benign and malignant epithelium of the gallbladder, extrahepatic bile ducts, and ampulla of Vater. *J Pathol* 1993; 170: 73-6.
  22. Nonomura A, Ohta G, Hayashi M, et al. Immunohistochemical localization of ras p21 and carcinoembryonic antigens (CEA) in cholangiocarcinoma. *Liver* 1987; 7: 142-8.
  23. Tada M, Yokosuka O, Omata M, Ohto M, Isono K. Analysis of ras gene mutations in biliary and pancreatic tumors by polymerase chain reaction and direct sequencing. *Cancer* 1990; 66: 930-5.
  24. Caldas C, Haha SA, Hruban R, Redston MS, Yeo CJ, Kern SE. Detection of K-ras mutations in the stool of patients with pancreatic adenocarcinoma and pancreatic ductal hyperplasia. *Cancer Res* 1994; 54: 3568-73.
  25. Watanabe M, Asaka M, Tanaka J, Kurosawa M, Kasai M, Miyazaki T. Point mutation of k-ras gene codon 12 in biliary tract tumors. *Gastroenterology* 1994; 107: 1147-53.
  26. Harpole DH Jr, Herndon JE II, Wolfe WG. A prognostic model of recurrence and death in stage I non-small cell lung cancer utilizing presentation, histopathology, and oncoprotein expression. *Cancer Res* 1995; 55: 51-6.
  27. 김선희, 김우호, 박용현. 간의담도암에서의 p53 발현의 의의. *대한암학회지* 1993; 25: 873-7
  28. Kamel D, Paakko P, Nuorva K, Vahakangas K, Soini Y. p53 and c-erbB-2 protein expression in adenocarcinomas and epithelial dysplasias of the gall bladder. *J Pathol* 1993; 170: 67-72
  29. DiGiuseppe JA, Hruban RH, Goodman SN, et al. Overexpression of p53 protein in adenocarcinoma of the pancreas. *Am J Clin Pathol* 1994; 101: 684-8.
  30. Teh M, Wee A, Raju GC. An immunohistochemical study of p53 protein in gallbladder and extrahepatic bile duct/ampullary carcinomas. *Cancer* 1994; 74: 1542-5.
  31. Wistuba II, Gazdar AF, Roa I, Albores-Saavedra J. p53 protein overexpression in gallbladder carcinoma and its precursor lesions. *Hum Pathol* 1996; 27: 360-5.
  32. Lee CS. Differences in cell proliferation and prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen immunoreactivity in in situ and invasive carcinomas of the extrahepatic biliary tract. *Cancer* 1996; 78: 1881-7.
  33. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA. Studies of the HER/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989; 244: 707-12.
  34. Wright C, Mellon K, Johnston P. Expression of mutant p53, c-erbB-2, and the epithelial growth factor receptor in transitional cell carcinoma of the human urinary bladder. *Br J Cancer* 1991; 63: 967-70.
  35. Isola J, Visakorpi T, Holli K, Kallioniemi OP. Association of overexpression of tumor suppressor protein p53 with rapid cell proliferation and poor prognosis in node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1109-14.
  36. Vaidya P, Kawarada Y, Higashiguchi T, Yoshida T, Sakakura T, Yatani R. Overexpression of different members of the type I growth factor receptor family and their association with cell proliferation in periampullary carcinoma. *J Pathol* 1996; 178: 140-5.
  37. Boschman CR, Stryker S, Reddy JK, Rao MS. Expression of p53 protein in precursor lesions and adenocarcinoma of human pancreas. *Am J Pathol* 1994; 145: 1291-5.
  38. Zhang SY, Ruggeri B, Agarwal P, et al. Immunohistochemical analysis of p53 expression in human pancreatic carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 1994; 118: 150-4.
  39. Brumm C, Riviere A, Wilkens C, Loning T. Immunohistochemical investigation and Northern blot analysis of c-erbB-2 expression in normal, premalignant and malignant tissue of the corpus and cervix uteri. *Virchows Arch A* 1990; 417: 477-84.