

세침흡인 검사물을 이용한 유방암세포 에스트로젠수용체 분석: 동결절편조직과의 비교

울산대학교 의과대학 서울중앙병원 병리학교실 및 일반외과학교실*

공경엽·안세현*·박건춘*·최기영·유은실·이인철

= Abstract =

Estrogen Receptor Analysis in Fine Needle Aspirates and Frozen Sections from Human Breast Carcinomas

Gyung Yub Gong, M.D., Se Hyun Ahn*, M.D., Kun Choon Park*, M.D.,
Ghee Young Choe, M.D., Eun Sil Yu, M.D., and In Chul Lee, M.D.

Departments of Pathology and General Surgery*, Asan Medical Center
College of Medicine, University of Ulsan

The expression of sex steroid hormone receptors by neoplastic cells is an important predictor of response to hormone therapy. Thus, the selection of treatment modality is often based on the identification of receptors in tumor tissue. Various monoclonal antibodies of high specificity are now available for analyzing the estrogen receptor (ER). With these antibodies, biochemical enzyme immunoassay and immunohistochemistry using histologic sections have been used for ER analysis. We used fine needle aspirates from 15 human primary breast carcinomas for the analysis of ERs. The semiquantitative receptor values obtained in cytologic specimens were correlated well with those from histologic specimens. The results of ER in fine needle aspirates were concordant with ER in histologic specimens ($r=0.94$). Only three cases showed a little difference in staining intensity and proportion of positive cells. Our results showed a good correlation between the receptor values determined in cytologic smears and those determined in tissue sections. It is suggested that measurement of the ER in cytologic smears may be a reliable technique which can be performed on aspiration cytologic samples.

Key words: Fine needle aspiration, Breast carcinoma, Estrogen Receptor

서 론

암세포의 스테로이드 호르몬 수용체의 발현 여부는 호르몬 치료에 대한 반응 및 환자의 예후와 밀접한 관련이 있음은 이미 잘 알려져 있다^{1,4}). 따라서 적합한 치료계획은 종양조직의 호르몬 수용체 유무에 근거를 두고 있다. 최근 특이도가 높은 다양한 항체가 개발되어 호르몬 수용체 인지에 이용되고 있으며 이 항체로 조직표본을 사용하여 생화학적 효소면역검색 및 면역화학적검색을 하고 있다⁵⁻⁷) 저자들은 유방암 진단에 세침흡인 세포검사가 이용되고 있으므로 이때 얻어진 흡인물을 이용하여 에스트로젠 수용체 (ER)의 검색이 이루어 질 수 있다면 말기나 재발성 유방암 환자에서 ER 검색이 절개 생검을 하지 않고도 용이하게 이루어 질 수 있다는 생각에 15예의 유방암 환자에서 얻어진 세침흡인물을 이용하여 ER 검색을 하여 이를 동결절편조직에서의 결과와 비교하였다.

재료 및 방법

대상: 본 연구는 1992년 5월부터 1993년 4월까지 1년간 서울중앙병원 해부병리과 세포병리검사실에서 행한 유방 병변 525 예 중 세침흡인물 및 수술후 얻어진 조직표본에서 동시에 ER 검색이 가능하였던 유방암 환자 15예를 대상으로 하였다. 환자의 연령은 32~71세 이고, 폐경전기 9명, 폐경후기 6명의 여성이 포함되어 있다.

세침흡인: 세침흡인은 10ml의 일회용 주사기에 길이 2.54cm, 굵기 23게이지의 주사침을 끼워 이를 syringe holder (Cameco Co., Sweden)에 부착시켜 한 손으로 병변을 잡아서 고정하고 다른 손으로 병소를 찔러 음압을 가한 후 빠른 속도로 주사기를 전후로 움직이고 주사기를 제자리에 놓은 후에 주사침을 뽑았다. 천자 직후

흡인물을 유리슬라이드 위에 도말하고 95% 에탄올 또는 공기건조시켜 통상의 Papanicolaou 염색 내지는 hematoxylin-eosin (H-E) 염색 그리고 May-Grünwald-Giemsa 염색을 각각 시행하여 형태학적 관찰을 하였다⁸). ER 염색을 위한 슬라이드는 조직 부착액으로 전처리 된 것을 사용하였으며, 천자물 도말후 저온 (4℃)에서 건조시켜 ER 염색을 할때 까지 -70℃의 냉동고에 보관하였다. ER 염색은 단항성 항체 (NCL-ER Anti-Estrogen Receptor, Novocastra, NCL-ER P31)를 사용하여 ABC 방법으로 염색하였다⁹). 이 결과를 반정량적인 방법으로 판독하였는데 두가지 점을 관찰하여 이를 점수화하여 4단계로 판독하였다. 첫째 핵 염색성의 강도, 둘째 ER 양성인 세포의 분포를 관찰하였다. 핵 염색성의 강도는 크게는 음성 및 양성, 양성인 경우 1, 2, 3의 3등급으로 나누었다. ER 양성 세포의 분포에서는 양성인 세포가 전체의 10% 이하인 경우, 10%에서 1/3사이, 1/3-2/3, 2/3이상으로 나누어 각각의 점수를 1~4점으로 하였다. 핵 염색성의 강도와 양성세포 분포의 점수를 더하여 0을 음성, 1~3을 약양성, 4~5를 중등도, 6~7을 강양성으로 판독하였다.

조직 표본: 수술에서 얻어진 조직표본은 육안관찰을 통해 암조직의 일부를 잘라서 액체 질속속에서 냉각시킨 isopentane액에 담구어 급속 동결시킨 후 -70℃ 냉동고에서 ER 염색을 할 때까지 보관하였다. ER 염색은 세침흡인물에서와 동일한 방법으로 시행하였고, 결과 판독도 동일하게 하였다. 나머지 표본은 10% 포르말린에 고정시켜 파라핀 포매하여 통상의 H-E 염색을 하여 형태학적 소견을 관찰하였다.

결 과

세침흡인물과 동결절편조직에서 ER에서의 핵 염색성의 강도 및 양성세포분포를 비교한 결과는 다음과 같다. 세침흡인물 및 동결절편조

직에서 ER 양성인 세포는 세포의 핵이 진하게 염색이 된 것을 관찰할 수 있었으며 (Fig. 1), 핵 염색성의 강도에 대한 결과는 Fig. 2와 같다. 두 염색방법에 있어서 상관계수는 양호하였다 ($r=0.88$, $P<0.05$). 5예에서는 동결절편조직 보다 세포흡인물에서 핵 염색성의 강도가 더 높았으며 동결절편조직표본의 핵 염색성의 강도가 높은 것은 단지 1예 뿐이었다. ER 양성세포

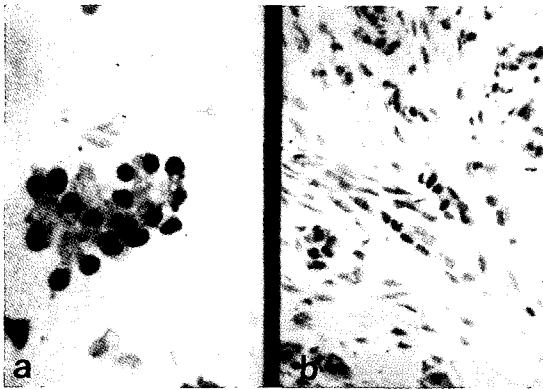


Fig. 1. Photomicrograph showing immunocytochemical staining of estrogen receptors in fine needle aspirate (a) and frozen section (b) (ABC method, A×400, B×200).

의 분포에 있어서도 양호한 상관관계를 보였다 (Fig. 3, $r=0.95$, $P<0.05$). 핵 염색성의 강도와 ER 양성 세포분포를 종합적으로 고려한 점수에 있어서도 역시 양호한 상관관계를 보였으며 ($r=0.94$, $P<0.05$), 5예는 세침흡인물이 더 높은 점수를 보였다 (Fig. 4).

Positive cell proportion

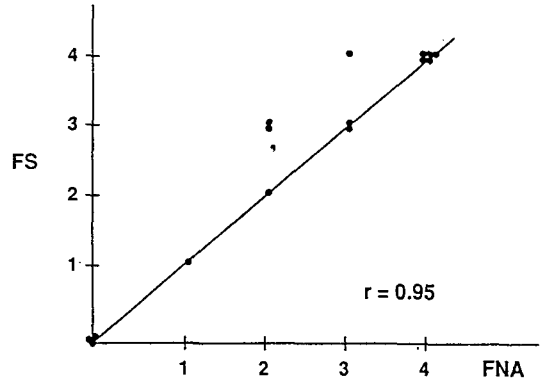


Fig. 3. Comparison of proportion of stained cells in fine needle aspirates and frozen sections.

Nuclear staining intensity

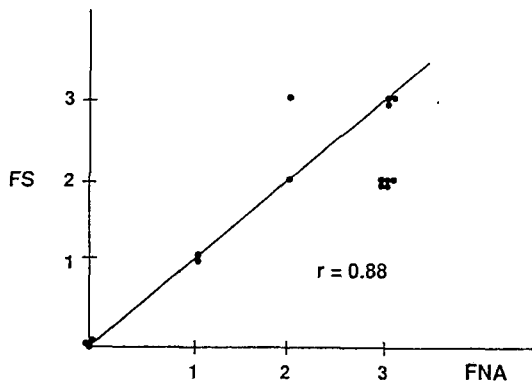


Fig. 2. Comparison of nuclear staining intensity of tumor cells in fine needle aspirates (FNA) and frozen sections (FS). (r = correlation coefficient)

Score

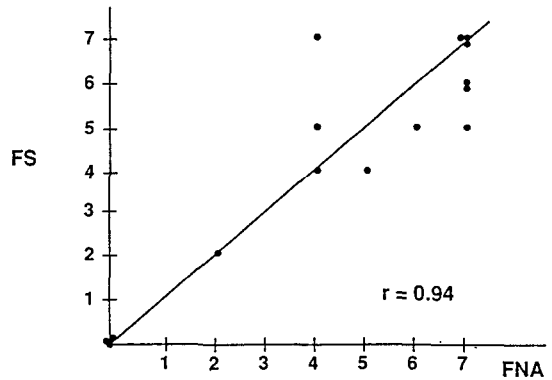


Fig. 4. Comparison of scores of estrogen receptor staining in fine needle aspirates and frozen sections.

고 찰

세침흡인세포검사는 여러 장기에서 행해지고 있지만, 유방은 외부에서 비교적 잘 만져지므로 세침흡인 세포검사가 유방병변의 진단에 유용하게 쓰이고 있다. 유방암치료로 이전에는 수술, 화학요법, 방사선치료 등이 주로 행해졌으나 최근에는 호르몬 요법이 병행되고 있으며 치료를 위한 환자 선택에 ER 분석이 도움이 되고 있다. ER 양성인 환자가 항상 antiestrogen 치료에 반응을 잘 하는 것은 아니지만 치료에 대한 반응율은 높다^{10,11}. ER 양성인 환자가 재발 없이 생존할 수 있는 기간이 더 길다고 보고되어 있으며³, 더욱이 ER 양성인 환자의 60% 정도가 호르몬 치료에 반응을 잘하며 이에 비해 ER 음성인 환자의 10% 정도만이 호르몬 치료에 반응을 하는 것으로 보고되어 있다⁴. 따라서 ER 분석은 의미있는 정보를 임상자에게 제공할 수 있어 많은 병원에서 통상적인 검사법으로 유방암환자의 ER 검색을 하고 있다. 다수의 기관에서는 ER 검색에 생화학적 방법을 사용하고 있다. 그러나 생화학적 방법은 많은 양의 조직이 있어야 한다는 단점이 있다. 따라서 유방암에 있어서는 조기발견시 암의 크기가 작으므로 진단을 위한 표본 제작에 암조직의 대부분이 사용되는 경우 문제점이 있게 되므로, 이런 경우 생화학적 방법을 이용한 ER 검색은 시행되기 어렵다. 최근들어 Greene 등에 의해 개발된 ER에 대한 단항성 항체를 이용하여 면역조직화학적 염색법이 ER 검색에 이용되었는데^{7,12}, 이로인해 적은 양의 조직만으로도 ER 검색이 가능해졌다. 그러나 이 방법도 조직이 필요하므로 생검 또는 수술을 통해 얻어진 표본이 있어야 한다. 말기 및 재발성 암환자나, 염증형 유방암 환자에서 진단 및 ER 검색을 위해 절개 생검을 행하는 것은 의사 뿐만 아니라 환자 입장에서 용이한 일은 아니므로 세침천자 흡

인물을 이용한 ER 분석이 최근 많이 행해지고 있으며 좋은 결과들이 보고되고 있다. 본 연구에서도 세침천자흡인물과 동결절편조직에서 ER 염색을 시행한 결과 상관계수 0.94로 유의한 관련성이 있음이 확인되었다. 따라서 세침천자 흡인물이 진단뿐 아니라 ER 검색에도 유용하게 쓰일 수 있다는 가능성을 제시해 주고 있다. 또 본 실험에서 핵 염색성의 강도에 있어서는 오히려 세침천자흡인물이 더 선명하게 염색이 되었는데, 이는 아마도 동결절편조직에서는 동결절편시 사용하는 OCT compound 및 동결시의 인공물로 염색의 선명도가 떨어지는 것으로 생각된다. 세침흡인 검사물을 이용한 ER 검색은 특히 재발성 암환자나 말기 암환자의 전이성 림프조직에서도 쉽게 행할 수 있으므로 수술후 이러한 환자에서도 용이하게 행할 수 있는 장점이 있으며 또 종양의 크기가 작을 경우에도 쉽게 할 수 있다. 물론 세침흡인 검사물로 ER 검색을 하기 위해서도 적절한 양의 채취물이 필요한데 이는 숙달된 병리의사가 행할 경우 문제가 없으며 실제로 본 연구에서도 1~2회의 천자로써 충분한 양의 채취물을 얻을 수 있었다.

세침흡인 검사물을 이용한 ER 분석이 가능하므로 앞으로 유방암환자의 예후와 관련이 많은 PR 및 c-erbB2 등과 같은 oncogene의 검색도 세침흡인 검사물로도 가능하다고 생각되며 Skoog 등이 이미 보고한 바 있다¹³⁻¹⁵. 따라서 세침흡인 세포검사는 유방암의 진단 뿐 아니라 예후와 관련된 중요한 정보들을 제공해 줄 수 있는 유용한 검사법이다.

결 론

1992년 5월부터 1993년 4월까지 1년간 서울 중앙병원 해부병리과 세포병리검사실에서 행한 유방병변 525예 중 세침흡인물 및 수술후 얻어진 조직표본에서 동시에 ER 검색이 가능하

었던 유방암 환자 15예를 대상으로 하여 세침 흡인물의 도말 및 동결절편 조직에서의 ER 검색 결과를 비교하여 다음의 결과를 얻었다.

조직 및 세포도말에서 핵 염색성의 강도 및 ER 양성 세포분포의 상관 계수는 0.95 및 0.88 ($P < 0.05$)로 양호한 상관관계가 있었으며, 이 두가지 면을 다 고려한 점수에 있어서도 상관 계수는 0.94였다 ($P < 0.05$). 따라서 동결절편조직 및 세침흡인물에서의 ER 검색의 결과의 차이가 없으므로 세침흡인물을 이용한 ER 검색이 가능하다고 생각된다.

참 고 문 헌

1. Byar DP, Seara ME, McGuire WL: Relationship between estrogen receptor values and clinical data in predicting the response to endocrine therapy for patients with advanced breast cancer. *Eur J Cancer* 15:299-310, 1979
2. McGuire WL, Person OH, Segaloff A: Predicting hormone responsiveness in human breast cancer. In: McGuire WL, Carbone PP, Vollmer EP, Eds. *Estrogen Receptors in Human Breast Cancer*. New York, Raven Press, 1975, pp 17-30
3. Osborne CK, McGuire WL: The use of steroid hormone receptors in the treatment of human breast cancer. A review. *Bull Cancer* 66:203-209, 1979
4. Osborne CK, Yochmowitz MG, Knight WA, McGuire WL: The value of estrogen progesterone receptors in the treatment of breast cancer. *Cancer* 46:2884-2888, 1980
5. Wrangé O, Nordenskjöld B, Silfversward C, Granberg PO, Gustafsson JA: Isoelectric focusing of estradiol receptor protein from human mammary carcinoma—a comparison to sucrose gradient analysis. *Eur J Cancer* 12:695-700, 1976
6. European Organization for Research and Treatment of Cancer R T C: Breast cancer cooperative group standards for the assessment of estrogen receptors in human breast cancer. *Eur J Cancer* 9:379-381, 1973
7. King WJ, de Sombre ER, Jensen EV, Greene GL: Comparison of immunocytochemical and steroid-binding assay for estrogen receptor in human breast tumor. *Cancer Res* 45:293-304, 1985
8. Franzen S, Zajicek K: Aspiration biopsy in diagnosis of palpable lesions of the breast. *Acta Radiol* 7:241-262, 1968
9. Azavedo E, Baral E, Skoog L: Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in cells obtained by fine needle aspiration from human mammary carcinomas. *Anticancer Res* 6:263-266, 1986
10. Coombes RC, Berger U, McClelland R, et al: Prediction of endocrine response in breast cancer by immunocytochemical detection of estrogen receptor in fine needle aspirates. *Lancet* 26:701-703, 1987
11. Burton G, Flowers J, Coc E, et al: Estrogen receptor determination by monoclonal antibody in fine needle aspiration breast cancer cytologies: a marker of hormone response. *Breast Cancer Res Treat* 10:287-291, 1987
12. Greene GL, Jensen EV: Monoclonal antibodies as probes for estrogen receptor detection and characterization. *J Steroid Biochem* 16:353-359, 1982
13. Skoog L, Humula S, Isaksson S, Tani E: Immunocytochemical analysis of receptors for estrogen and progesterone in fine-needle aspirates from human breast carcinomas. *Diagn Cytopathol* 6:95-98, 1990
14. Skoog L, Wilking N, Humula S, Stenkvist B, Rutqvist LE: Estrogen and progesterone receptors and modal DNA value in tumor cells obtained by fine-needle aspiration from primary breast carcinomas during tamoxifen treatment. *Diagn Oncol* 1:282-287, 1991
15. Skoog L, Anbarlo J, Wilking N, Rutqvist LE: C-erb B2 and steroid receptors in carcinoma cells obtained by fine-needle aspiration from primary breast carcinomas during tamoxifen treatment. *Diagn Oncol* 2:327-331, 1992