

## 위선종 및 위선암종에 있어서 PCNA 발현 양상에 관한 연구

영남대학교 의과대학 병리학교실

김미진 · 최원희 · 이태숙

### 서 론

위암종은 국내에서 가장 높은 발생빈도를 보이는 악성 종양 중의 하나로서 소화의 기저세포에서 기원하며,<sup>1)</sup> 대부분 장형화생을 동반한 만성 위축성 위염의 배경에서 이형성증, 상피내 암종, 조기 위암 등 선행되는 일련의 단계를 거쳐서 진행성 위암으로 발전하는 것으로 알려져 있다.<sup>2)</sup>

내시경적 위생검이 상용화 되면서 조기 위암의 검색빈도가 높아지고 선종 또한 병리의들에 게 흔히 접하는 병변이 되었다. 선종이 암종과 동반되는 경우가 많고<sup>3)</sup> 높은 빈도에서 악성화한다는 보고<sup>4)</sup>도 있어 선종은 위의 여러가지 전암성 병변 가운데서도 위암종과의 관계를 추정하려는 차원에서 많은 관심의 대상이 되고 있다. 또한 위선종은 환자의 치료 방침을 결정하는 측면에서 정확한 진단, 즉 선암종과의 감별이 임상적으로 매우 중요하나 세포의 이형성을 보이는 점에서 병리조직학적 소견만으로 구분이 쉽지 않은 경우가 있다.<sup>5)</sup>

일반적으로 위암종의 예후 추정에 있어서 다른 종양에서와 마찬가지로 임상 및 병리학적 판

정 기준이 중요하다. 특히 조직학적 근거에 의한 형태학적 기준은 그 분류법이 다양하고 객관성이 부족하여 예후를 추정하는데 문제점이 지적되어 왔다.

종양의 악성도와 예후판정에 있어 보다 객관적이고 재현성이 우수한 인자로서 종양세포의 증식력 측정이 여러가지 방법으로 인체암에서 광범위하게 적용되고 있으며,<sup>6,7)</sup> 그 중에서도 증식세포 핵항원(Proliferating Cell Nuclear Antigen, PCNA)을 이용한 면역조직화학적 염색방법은 파라핀 조직에서 사용이 가능한 장점이 있어 종양의 증식능을 측정하는 방법으로 최근 많이 이용되고 있다.<sup>8,10)</sup>

위암종에서 예후인자로서의 PCNA의 의의에 대한 보고가 소수 있으나 위선종 및 조기 위암을 포함한 위선암종을 대상으로 한 연구는 거의 없다. 이에 저자들은 위선종 및 선암종에 있어서 PCNA에 대한 면역 조직화학적 염색을 시행하여 선종과 선암종과의 감별진단에 도움이 될 수 있는지 알아보고, 선암종에 있어서 조직학적 분화도, 침습 정도, 림프절 전이 유무와의 상관관계를 알아봄으로써 예후적 인자로서의 가치를 척도해 보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

1992년부터 1994년까지 3년간 영남대학교 의과대학 병리학교실에 의뢰되어 위선종 및 선암종으로 진단된 89례를 대상으로 하였다. 그 중 선종은 25례로 위생검에 의한 것이고 선암종은 64례로 위 절제술에 의한 것이며 조기위암 15례가 포함되었다. 위궤양으로 위 절제술을 시행한 조직 절편 중 만성 위염 병변 20례를 대조군으로 하였다.

### 2. 방법

#### 1) 병리조직학적 검토

절제한 조직은 10% 포르말린에 고정하고 파라핀에 포매한 후 통상의 과정을 거쳐 H&E 염색을 시행하였다. 선종과 선암종의 조직학적 유형은 WHO 분류에 따라 판정하였고 선암종에 있어서 침습 깊이( $T_1$ - $T_4$ )와 림프절 전이 유무(N+, N-)를 조사하였다. 종양의 침습 깊이가 점막이나 점막하 조직에 국한된 경우, 즉 조기 위암을  $T_1$ , 종양이 근육층을 침범한 경우를  $T_2$ , 종양이 장막을 침습한 경우를  $T_3$ , 그리고 종양이 주위 대망이나 소망으로 침습한 경우를  $T_4$ 로 각각 구분하였으며, 림프절 전이가 있는 경우를 N(+), 림프절 전이가 없는 경우를 N(-)로 구분하였다.

#### 2) PCNA에 대한 면역조직화학적 염색 및 염색 결과의 판정

병변을 대표하는 소견을 보이는 파라핀 블록 1개를 선정하여 항 PCNA mouse 항체(PC 10, Novocastra, U.K.)를 일차 항체로 사용하여 Labelled Streptavidin Biotin Complex 방법으로 염색하였다. 결과의 판정은 광학 현미경 400배 배율에서 무작위로 다섯 시야를 골라 종양세포

300개 중 반응의 강도에 관계없이 핵이 갈색 과립으로 염색된 세포를 양성으로 간주하고 이 세포들의 평균 백분율을 산출하여 PCNA 표지지수 (Labelling index)로 정하였다.

### 3) 통계학적 분석

SPSS-PC+ 프로그램을 이용하여 1-way ANOVA, t-test로 분석하여 통계학적 의의를 검토하였다.

## 결과

### 1. 임상소견

선암종 64례의 연령 분포는 27세에서 75세로 평균 56세였고 남자가 76%, 여자가 24%였다. 선종 25례의 연령 분포는 45세에서 74세로 평균 58세였고 남자가 88%, 여자가 12%였다. 대조군의 평균 연령은 47세로 남녀 비는 비슷하였다.

### 2. 병리학적 검색

위선종의 조직학적 유형은 관상선종 22례, 관-융모상 선종 2례, 융모상 선종 1례였다. 선암종의 조직학적 분류는 고분화형 17례, 중분화형 27례, 저분화형 20례였으며, 침습 깊이에 따라 분류한 결과  $T_1$ 은 15례(23%),  $T_2$ 는 8례(12%),  $T_3$ 는 7례(11%),  $T_4$ 는 34례(54%)로 각각 나타났다. 림프절 전이 여부에 의해 구분한 결과 N(+)는 43례(66%), N(-)는 21례(34%)였다.

### 3. PCNA 표지지수

모든 예에서 PCNA 양성 반응을 관찰할 수 있었고 염색상은 핵에 국한되어 과립상 또는 미만성으로 염색되었으며 그 중 과립으로 염색된 것을 PCNA 표지세포로 정하였다. 대조군의

PCNA 표지지수는  $29.14 \pm 12.77\%$ 였으며, 위선종  $44.09 \pm 17.11\%$ , 위선암종  $80.15 \pm 10.69\%$ 로서 대조군, 위선종, 위선암종 순으로 PCNA 양성세포가 증가하는 경향을 보였고(그림 1), 이들 세군 사이에서 통계학적으로 의의있는 차이가 관찰되었다( $P<0.01$ ) (표 1). 위선암종의 PCNA 표지지수를 조직학적 분화도에 따라 살펴보면 고분화형인 경우  $72.08 \pm 11.28\%$ , 중분화형  $84.00 \pm 9.47\%$ , 저분화형  $83.56 \pm 12.70\%$ 로 중분화형 및 저분화형은 각각 고분화형과 유의한 차이가 있었으나 ( $P<0.01$ ), 이들 3 등급 간에는 통계학적으로 차이가 인정되지 않았다(표 2). 위선암종의 PCNA 표지지수를 침습 정도에 따라 살펴보면  $T_1$  67.00  $\pm 9.81\%$ ,  $T_2$   $82.57 \pm 9.18\%$ ,  $T_3$   $84.60 \pm 10.56\%$ ,  $T_4$

$82.86 \pm 10.94\%$ 로 침습 깊이가 깊을수록 PCNA 표지지수가 높은 경향을 보였으며 특히  $T_1$ 과  $T_2$  사이에 뚜렷한 차이를 보였으나 4군 간에 통계적 유의성은 없었다. 그러나 이들 군을 조기 위암군( $T_1$ )과 진행성 위암군( $T_{2-4}$ )으로 대별하였을 때(그림 2) PCNA 표지지수는 진행성 위암군에서 조기 위암군에 비해 의의있게 높았다 ( $P<0.01$ )(표 3). 림프절 전이 유무와 PCNA 표지지수와의 비교분석에서는 림프절 전이가 있는 경우는  $83.30 \pm 10.69\%$ 였고, 없는 경우는  $69.90 \pm 11.46\%$ 로 림프절 전이가 있는 선암종이 림프절 전이가 없는 경우보다 통계학적으로 의의있는 차이를 보였다( $P<0.01$ )( 표 4 ).

Fig. 1. Strong intranuclear PCNA immunostaining in adenocarcinoma(C) in contrast to adenoma(B) and control group(A). (LSAB method,  $\times 200$ ).

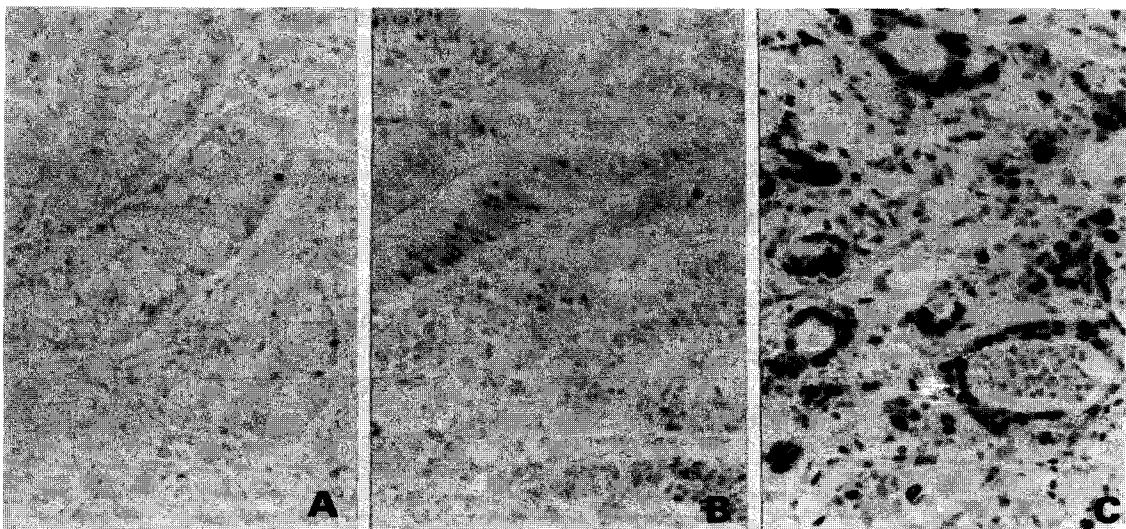


Table 1. PCNA labeling index(mean  $\pm$  SD) in control, adenoma and adenocarcinoma

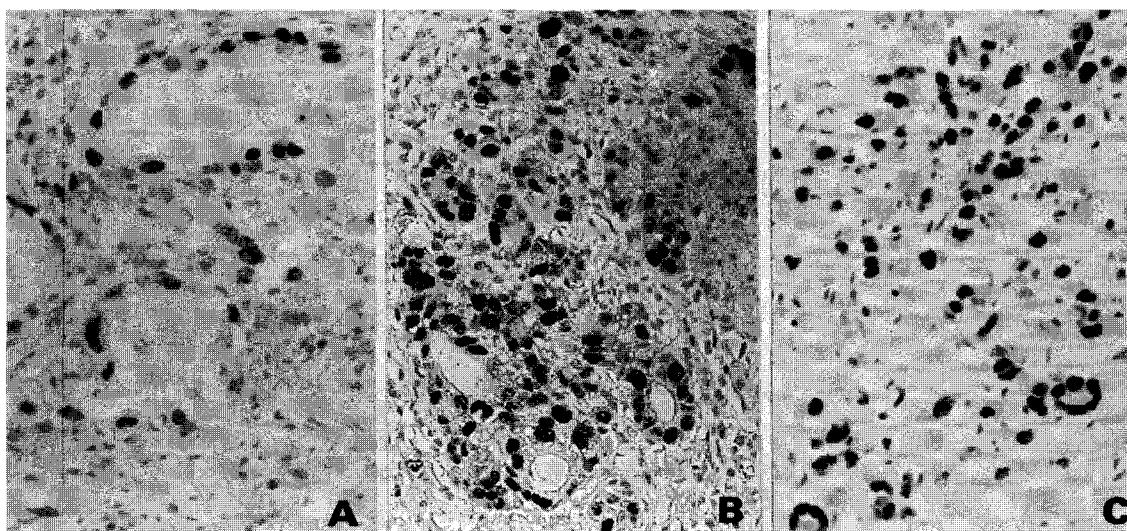
	PCNA labelling index(No. of cases)
Control	$29.14 \pm 12.77$ (20)
Adenoma	$44.09 \pm 17.11$ (25)
Adenocarcinoma	$80.15 \pm 10.69$ * (64)

\* P value < 0.01

Table 2. PCNA labeling index(mean $\pm$ SD) of adenocarcinoma in relation to histologic grade

	PCNA labeling index(No. of cases)
Well	72.08 $\pm$ 11.28(17)
Moderately	84.00 $\pm$ 9.47(27)
Poorly	83.56 $\pm$ 12.70(20)

Fig. 2. Immunohistochemical stains for PCNA show higher positivity in advanced carcinoma than early gastric carcinoma.  
 (A) early gastric carcinoma. (B) advanced moderately differentiated adenocarcinoma. (C) advanced poorly differentiated adenocarcinoma. (LSAB method,  $\times 200$ ).

Table 3. PCNA labeling index(mean $\pm$ SD) of adenocarcinoma in relation to invasion depth

	PCNA labeling index(No. of cases)
T <sub>1</sub>	67.00 $\pm$ 9.81(15)
T <sub>2</sub>	82.57 $\pm$ 9.18( 8)
T <sub>3</sub>	84.60 $\pm$ 10.56( 7)
T <sub>4</sub>	82.86 $\pm$ 10.94(34)

Table 4. PCNA labeling index(mean $\pm$ SD) of adenocarcinoma in relation to lymph node metastasis

	PCNA labeling index(No. of cases)
Lymph node (+)	83.30 $\pm$ 10.69*(43)
Lymph node (-)	69.90 $\pm$ 11.46 (23)

\* P value &lt; 0.01

## 고 찰

PCNA는 DNA polymerase δ의 보조 단백질로서 홍반성 루푸스 환자의 혈청내 자가항체에 의해 인지되는 핵항원으로 처음 발견되었으며 전세포 주기를 통해 핵내에 존재하면서 G<sub>1</sub> 후기에 합성되므로 세포의 증식상태와 상응한다.<sup>11-12)</sup>

즉 PCNA 표지지수는 종양의 생물학적 활성을 반영하는 바, 암 위험도의 측정, 나아가서 예후 측정인자로서 가치를 기대할 수 있으며 실제로 위장관,<sup>13)</sup> 방광,<sup>14)</sup> 피부<sup>15)</sup>의 종양 등에서 독립된 예후 인자로서 유용하다는 보고가 있다.

위내시경 검사의 도입 이후 내시경을 통한 위생검 진단은 외과 병리학적 검사업무의 높은 비중을 차지하게 되었고 결과적으로 위선종과 접하는 기회도 많아졌다. Kamiya 등<sup>4)</sup>은 내시경 검체중 0.8%, 80세 이상에서는 3.7%, 김 등<sup>3)</sup>은 2%의 빈도를 보인다고 하였다.

위선종 자체의 용어상 개념의 정립에 있어서 오랫동안의 혼선에도 불구하고 위암종과 동반되는 예가 많았고 높은 빈도에서 악성화가 보고되기도 하여<sup>4)</sup> 위암종과의 상관관계 및 감별에 대해 중점적으로 연구되고 있다. 따라서 위선종은 악성변화의 가능성성이 많으므로 정확히 진단하는 것이 치료방향 결정에 중요함은 주지하는 사실이나 조직학적으로 세포의 이형성을 나타내므로 양성 재생성 과증식 및 고분화 선암종과의 주의 깊은 감별을 요한다.<sup>16)</sup> 흔히 이들의 광학현미경적 감별기준이 정확하지 못하므로 PCNA를 이용하여 세포의 증식성을 객관화하여 구분하려는 노력이 시도되고 있다.<sup>17)</sup>

본 연구에서 관찰되는 PCNA 발현양상은 대조군, 위선종군, 위선암종군의 순으로 양성을 이의있게 증가하여 PCNA 발현도는 위선종과 위선암종의 감별에 상당한 가치를 지닌다고 생

각되며 이러한 결과는 김 등<sup>18)</sup>의 보고와 일치한다. 특히 위선종의 PCNA 표지지수는 평균 50% 이하의 낮은 양성을 보인 반면, 위선암종에서는 80% 이상의 높은 양성을 나타내어 80% 이상의 고등급 PCNA 반응도를 보일 경우 악성으로 간주하여도 무방할 것으로 생각되나 표준편차가 심하므로 형태학적 소견 및 다른 인자를 함께 고려해 보는 것이 선종과 선암종의 감별에 유용할 것으로 사료된다.

위암종의 예후에 영향을 주는 인자로는 연령, 종양의 크기, 육안적 유형, 조직학적 분화도, 성장양식, 침습도, 림프절 전이상태, 혈행성 원격전이상태, 그리고 숙주의 면역반응 등이 관여한다. 특히 조직학적 분화도와 침습정도는 상호 밀접한 연관관계가 있으며 그 중에서도 침습 깊이의 판정이 예후를 결정하는데 결정적인 인자임이 증명되었고<sup>19)</sup> 이는 조기위암 검색의 중요한 명분이 되고 있다.

형태학적 기준에 의존하는 조직학적 판정기준은 일부 위암종의 경우 모호하게 정의되어 있고 판독하는 병리의에 따른 재현성의 차이가 있으며 실제로 같은 등급의 분화도를 보이는 종양 중에는 다른 예후를 보이는 예가 드물지 않다.<sup>20)</sup> 그러므로 조직학적 분화도만으로 예후를 정확하게 예측하지 못하는 경우가 있어 위암종에서 보다 객관적이고 재현성이 우수한 예후인자를 평가하는데 종양세포의 증식능에 대한 연구가 시도되고 있다.

즉 은호기성 염색 방법, 항 bromodeoxy uridine, Ki-67, 유세포 측정법 등<sup>21-23)</sup>이 있고, PCNA를 이용한 면역 조직화학적 방법은 파라핀 블록을 이용할 수 있어 후향적 연구도 가능한 이점이 있으므로 최근 많이 이용되고 있다. 본 연구에서 PCNA 발현양상과 조직학적 분화도, 침습 깊이, 림프절 전이상태와 비교한 결과 조직학적 등급

이 고분화형인 경우 중등도 및 저분화형에 비해 통계학적으로 유의한 차이가 있었지만 각 등급들 사이에서 의의있는 차이는 인정되지 않았다.

침습 깊이에 있어서 침습 정도가 심할수록 PCNA 양성세포가 증가하는 경향을 보이나 4군 사이에서 통계학적 유의성은 없었고 진행성 위암군은 조기 위암군에 비하여 뚜렷한 증가가 인정되었다. 또한 림프절 전이가 있는 암종군에서 그렇지 않은 군보다 의의있는 증가를 보여 PCNA가 위암의 침윤과 전이에 중요한 역할을한다고 생각된다.

이러한 결과는 항 Ki-67항체를 이용한 세포 역동학적 연구<sup>24)</sup> 및 유세포 측정기를 이용한 보고<sup>25)</sup>와 PCNA를 이용한 다른 보고들<sup>13,26)</sup>과 유사하여, PCNA 표지지수가 위암종의 예후인자로서 보조적인 유용성을 지닌다고 생각되지만 PCNA 반응도만으로 독립적인 예후측도로서 인정하기에는 무리가 있는 것으로 생각되며 다른 예후인자의 고려가 필요할 것으로 사료되었다.

## 요 약

최근 3년간 영남대학교 의과대학 병리학교실에 의뢰되어 진단되었던 위선종 25례와 위선암종 64례를 대상으로 항 PCNA항체를 이용한 면역 조직화학적 염색을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) PCNA 양성을 대조군  $29.14 \pm 12.77\%$ , 위선종  $44.09 \pm 17.11\%$ , 위선암종  $80.15 \pm 10.69\%$ 로서 대조군, 위선종, 위선암종 순으로 유의한 증가를 보였다

2) 위선암종에 있어서 PCNA 양성을 조직학적 분화도와 비교한 결과, 중분화형 및 저분화형은 고분화형에 비해 반응도가 증가하는 경

향이 있지만 3등급 간에 통제적 유의성은 없었다.

3) 위선암종의 PCNA 양성을 침습 정도와 비교한 결과, 그 정도가 심할수록 증가하는 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었고, 조기 위암군과 진행성 위암군으로 대별할 경우 진행성 위암종에서 의의있는 증가를 보였다.

4) 위선암종의 PCNA 양성을 림프절 전이 상태와 비교한 결과, 림프절 전이가 있는 선암종에서 림프절 전이가 없는 선암종에 비해 의의있는 증가를 보였다.

이상의 결과를 종합하면 PCNA 양성반응은 위선종과 위선암종의 감별진단에 크게 도움을 주리라 사료되며, PCNA는 위선암종의 침윤과 전이에 밀접한 관계가 있을 것으로 생각되어 예후 측정에 보조적인 가치가 있을 것으로 추정되었다. 그러나 PCNA 반응도만으로는 독립적인 예후 척도로 인정하기 어려울 것으로 생각되며 다른 예후 인자와 함께 고려하는 것이 유용할 것으로 생각되었다.

## 참 고 문 헌

- Taki K, Kuwabara N : Studies of histogenesis of the gastric carcinoma using minutes cancers. Pathol Res Pract 172 : 176-190, 1981.
- Hattori T : Development of adenocarcinomas in the stomach. Cancer 57: 1528, 1534, 1986.
- 김용일, 김우곤 : 위선종의 병리학적 특성 및 위암과의 상관관계에 관한 조직구축학적 연구. 대한병리학회지 18:164-171, 1984.
- Kamiya T, Morishita T, Asokma H : Long-term follow up study on gastric adenoma and its relation to gastric protruded carcinoma.

- Cancer 50:2496-2503, 1982.
5. 김동석, 남혜주, 최원희, 이태숙 : 위선종에 대한 병리조직학적 연구. 영남의대 학술지 8(2) : 76-83, 1991.
  6. 장희진, 강경희, 박정희, 손진희, 서정일 : 위의 정상 및 종양 상피에서의 Nucleolar Organizer Region에 관한 연구. 대한병리학회지 26:451-458, 1992.
  7. Gerdes J, Lemke H, Buisch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H: Cell cycle analysis of a cell proliferation associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 133:1710-1715, 1984.
  8. Van Dierendonck JH, Wijsman JH, Keijzer R, Van le velde CJH, Cornelisse CJ : Cell cycle related staining patterns of anti-proliferating cell nuclear antigen monoclonal antibody. *Am J Pathol* 138:1165-1172, 1991.
  9. Jorma JI, Heikki JH, Markku JH, Olli-Pekka K : Evaluation of cell proliferation in breast carcinoma. *Cancer* 65:1180-1184, 1990.
  10. Hall PA, Levison DA, Woods AL, Yu C, Kellock DB, Watkins JA, Barnes DM, Gillett CE, Camplejohn B, Dover R : Rapid communication: proliferating cell nuclear antigen(PCNA) immunolocalization in paraffin sections : an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasm. *J Pathol* 162:285-294 1990.
  11. Miyachi K, Fritzler MJ, Ta EM : Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. *J Immunol* 121:2228-2234, 1978.
  12. Prelich G, Tan CK, Kostura M, Mathews MB, So AG, Downey KM, Stillman B : Functional identity of proliferating cell nuclear antigen and DNA polymerase-auxiliary protein. *Nature* 326:517-520, 1987.
  13. Jain S, Filipe MI, Hall PA, Wassm N, Lane DP, Levison DA : Prognostic value of proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma. *J Clin Pathol* 44:655-659, 1991.
  14. 이상엽, 박영년, 박찬일 : 방광 이행세포암 종 예후인자로서의 PCNA 표지자수의 가치. 대한병리학회지 28:282-287, 1994.
  15. Penneys NS, Boguert M, Serfling U, Sisto M : PCNA expression in cutaneous keratinous neoplasm and verruca vulgaris. *Am J Pathol* 141:2-10, 1992.
  16. Nakamura H, Sachaguchi H, Enjoji M : Depressed adenoma of the stomach. *Cancer* 62: 2197-2202, 1988.
  17. 김우호, 김용일 : 위선종의 연속적 생검조직의 PCNA 변화. 대한병리학회지 학술대회 초록집 1992.
  18. 김주현, 문우성, 이동근, 김상호 : Nuclear organizer regions와 PCNA 를 이용한 악성종양의 증식도에 관한 연구. I. 인체 위암에 관한 연구. 대한병리학회지 제 18차 춘계학술대회 초록집 A64, 1993.
  19. Serlin O, Kecht RS, Higgins GA Jr, Harrower HW, Mendeloff GL : Factors related to survival following resection for gastric carcinoma. analysis of 903 cases. *Cancer* 40: 1318-1329, 1977.
  20. Oota K, Sabin LM : Histological typing of gastric and esophageal tumors. International histological classification of tumors. NO. 18, WHO, Geneva, 1977.
  21. 장희진, 강경희, 박정희, 손진희, 서정일 : 위의

- 정상 및 상피세포에서의 Nucleolar organizer region에 관한 연구. 대한병리학회지 26:451-458, 1992.
22. Rosa J, Mehta A, Filipe MI : Nucleolar organizer regions in gastric carcinoma and its precursor stages. Histopathol 16:265-269, 1990.
23. Hall PA, Levison DA, Review : Assessment of cell proliferation in histological material. J Clin Pathol 43:184-192, 1990.
24. Yonemura Y, Ooyama S, Sugiyama K, Ninomiya I, Kamata T, Yamaguchi A, Matsumoto H, Miyazaki I : Growth fractions in gastric carcinomas determined with monoclonal antibody Ki-67. Cancer 62:1130-1134, 1990.
25. Yonemura Y, Sugiyama K, Fujimura T : Correlation of DNA ploidy and proliferative activity in human gastric cancer. Cancer 62:1497-1502, 1988.
26. 한원철, 문형배 : 위 이형성증과 선암종에서 CEA, AgNORs 및 PCNA의 진단적 의의. 대한병리학회지 29:61-67, 1995.

-Abstract-

A study of PCNA Expression in Gastric Adenoma and Adenocarcinoma

Mi Jin Kim, Won Hee Choi, Tae Sook Lee

*Department of Ophthalmology*

*College of Medicine, Yeungnam University*

*Taegu, Korea*

A monoclonal antibody to PCNA, which can be used on routinely processed tissue, was applied to 25 cases of gastric adenomas and 64 cases of gastric adenocarcinomas in order to differentiate adenoma and adenocarcinoma and also to evaluate the prognostic value in adenocarcinoma. The results were summarized as follows: The PCNA labelling index was  $29.14 \pm 12.77\%$  in control,  $44.09 \pm 17.11\%$  in adenoma and  $80.15 \pm 10.69$  in adenocarcinoma, resulting in significant increase in adenocarcinoma compared to adenoma.

In adenocarcinoma, no significant correlation was observed between PCNA labelling index and histologic grade, and there was increased tendency of PCNA labelling index in proportion to depth of invasion without statistical significance. The PCNA index was significantly increased in advanced adenocarcinoma compared to early gastric carcinoma, and also in positive nodal metastasis group than in negative group.

From above results, the PCNA stain will be able to provide a helpful method for the differential diagnosis between gastric adenoma and adenocarcinoma, and could be a useful prognostic factor in adenocarcinoma if other factors are considered together.

Key Words : PCNA, Stomach, Adenoma, Adenocarcinoma