

## 점액 및 면역 세포화학적 Panel 염색에 의한 장액성 삼출액내 반응성 중피세포와 암종세포의 감별

성균관대학교 의과대학 마산삼성병원 해부병리과

김 병 현 199,000

= Abstract =

### Distinction Between Reactive Mesothelial and Carcinoma Cells in Serous Effusions by Mucin- and Immuno-cytochemical Panel

Byung Heon Kim, M.D.

Department of Anatomic Pathology, Masan Samsung Hospital,  
College of Medicine, Sung Kyun Kwan University, Korea

The cytologic distinction of carcinoma cells from reactive mesothelial cells can be difficult, especially in specimens containing abundant reactive mesothelial cells and inflammatory cells with scant carcinoma cells. This study evaluates the usefulness of mucin and immunocytochemistry for discrimination between reactive mesothelial cells and carcinoma cells, and sensitivity and specificity of these stains for the detection of metastatic carcinoma in serous effusions. Immunocytochemical panel including mucin cytochemistry with the periodic acid-Schiff(PAS) reaction after or without diastase digestion was undertaken on 127 serous effusion specimens with histologically confirmed diagnoses. The specimens including cell smears and cell blocks were stained with PAS and antibodies to carcinoembryonic antigen(CEA), epithelial membrane antigen(EMA), cytokeratin(CK), and vimentin. The sensitivities of these stains for metastatic carcinoma(127 cases) were 49%(46/94) in PAS, 48%(60/124) in CEA, 89%(97/109) in EMA, 88%(93/106) in CK, and 25%(20/81) in vimentin. The sensitivities of stains for reactive mesothelial cells(36 cases) were 19%(7/36) in EMA, 78%(28/36) in CK, and 75%(27/36) in vimentin. The PAS and CEA stains were not reacted with all cases of benign reactive serous effusions containing abundant reactive mesothelial cells. The specificities of stains for metastatic carcinoma(127 cases) were 100% in PAS, 100% in CEA, 81% in EMA, 22% in CK, and 25% in vimentin. The optimal combination of stains for use in a panel was PAS and CEA. Combined results from these two stains yielded an advanced sensitivity of 8% in PAS and 4% in CEA for metastatic carcinoma. EMA was

also considerably useful for identification of carcinoma cells. CK and vimentin were not suitable for distinguishing between reactive mesothelial cells and carcinoma cells.

**Key words:** Serous effusion cytology, Mucin cytochemistry, Immunocytochemistry

## 서 론

체강에서 채취된 장액성 삼출액의 세포학 검사는 통상적인 Papanicolaou(Pap) 염색 또는 hematoxylin-eosin(H-E) 염색에 의해 대부분 용이하게 진단되지만 풍부한 반응성 중피세포나 암종세포가 포함되어 있으면 암종세포의 감별이 매우 힘든 경우가 있다. 특히 암종세포가 반응성 중피세포에 비해 상대적으로 수가 적으면 진단이 더욱 어려울 수 있다<sup>1)</sup>. 이러한 경우 세포형태학적 소견에 추가하여 세포화학법<sup>2-3)</sup>, 면역세포화학법<sup>4-5)</sup> 및 유세포법<sup>6)</sup> 등 여러가지 보조적인 기술을 이용하면 진단의 정확도를 높일 수 있는 유익한 정보를 얻을 수 있으나 암종세포만을 증명할 수 있는 유일한 방법은 없는 것으로 알려져 있다.

Periodic acid-Schiff(PAS), mucicarmine, 및 alcian blue 염색 등에 의한 점액세포화학법<sup>2-3)</sup> 과 중간 사상체(intermediate filament)나 고분자 당단백에 대한 항체<sup>7-8)</sup>를 이용한 일련의 면역세포화학법은 암종세포에 대해 높은 감수성과 특이성을 가지고 있음이 입증되어 장액성 삼출액에서 전통적인 형태학적 진단에 유용한 보조 수단으로 널리 이용되고 있다. 이러한 염색법은 암종세포를 확인하고 또 암종세포와 반응성 혹은 악성 중피세포간의 감별을 쉽게 하며 나아가 암종세포의 수가 적거나 풍부한 암종세포 혹은 반응성 중피세포들에 의해 암종세포가 분명하게 인지되지 않을 때 도움을 준다<sup>1, 9)</sup>. 그러나 점액세포화학적 염색이나 면역

세포화학적 염색중 암종세포에 대해 최상의 감수성과 특이성을 갖는 것은 하나도 없어 2가지 혹은 그 이상의 점액세포화학적 및 면역세포화학적 염색으로 구성되는 panel 염색<sup>2-3, 7-8)</sup>을 시행한 후 이들 염색 결과를 종합적으로 비교 검토하면 진단의 정확도를 높일 수 있고 나아가 원발병소를 추정하고 확진하는 데에 도움을 받을 수 있는 장점이 인정되어 현재는 panel 염색이 널리 이용되고 있다. Panel 염색이 Pap이나 H-E 염색에 의한 통상적인 세포학적 진단에 큰 도움을 주고 있는 것은 분명하지만 세포의 광학현미경적 소견, 환자의 임상 정보 및 감별해야 할 진단에 따라 이용할 면역항체의 선택이 달라지며 같은 종류의 항체라도 감수성과 특이성의 차이가 있고 또 의료 행정적인 측면에서 제한이 있기 때문에 panel에 포함시킬 면역염색 종류의 선택과 범위의 확장은 그리 쉽지 않다.

저자는 체강에서 채취된 장액성 삼출액의 세포병리학적 검사에서 반응성 중피세포와 암종세포의 감별에 가치있는 염색법으로 추천되고 있는 carcinoembryonic antigen(CEA), epithelial membrane antigen(EMA), cytokeratin(CK) 및 vimentin 등 4가지의 면역염색에 증성점액을 확인하기 위해 널리 이용되고 있는 PAS 염색을 추가한 5종류의 염색으로 구성되는 panel 염색이 반응성 중피세포와 암종세포의 감별 진단에 어느 정도 유용한지 그리고 암종세포에 대한 감수성과 특이성은 어떠한지 알아보기 위해 본 연구를 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 연구 재료

1988년 1월 1일부터 1998년 1월 31일까지 10년 1개월간 성균관대학교 의과대학 마산삼성병원 해부병리과에 의뢰된 흉강, 심낭 및 복강 삼출액의 세포학적 검사에서 분명한 암종 세포로 진단된 183명의 환자중 조직생검 또는 종양 절제를 통하여 원발병소가 확인되고, 원발부위의 조직학적 진단과 세포도말 표본의 세포학적 진단이 일치하는 예들중, 연구에 적합한 세포도말 슬라이드가 2장 이상이 보존되어 있었던 127예와 세포병리학적 소견 및 임상기록을 철저히 조사한 결과 악성 질환을 발견할 수 없어 양성 반응성 질환으로 증명되었던 36예의 세포도말 검사물을 연구대상으로 하였다. 악성 삼출액은 흉강삼출액 54예, 심낭삼출액 4예, 복강삼출액 69예로 구성되었다. 한 예의 환자에서 연속적으로 두번 이상의 천자에 의해 채취된 검체는 Pap 염색을 시행한 세포도말 슬라이드를 검경한 후 본 연구에 가장 적합한 1예를 선택하였다. 양성 질환으로 판명된 환자중에 반응성 중피세포를 충분히 포함하는 장액성 삼출액은 흉강 삼출액 16예, 복강삼출액 20예였다. 127예의 암종세포를 포함하는 장액성 삼출액은 모두 임상의의 천자로 얻어졌으며 그 중 56예는 천자 즉시 임상의에 의해 2장 내지 4장의 슬라이드에 도말되어 95% 알코올에 고정된 상태로 해부병리과로 의뢰되었고, 71예는 천자된 삼출액 전량을 의뢰 받아 5분간 1500 rpm으로 원심 분리과정을 거친 후 검체의 양에 따라 2장 내지 5장의 세포도말 슬라이드로 제작되어 젖은 상태에서 즉시 95% 알코올에 30분 이상 고정한 후 통상적인 방법에 의하여 Pap 염색을 시행하였다. 천자된 삼출액이 모두 의뢰된 71예 중 침천물이 충분한 24예는 세포군집 절편을 제작하였

다. Pap 염색을 시행한 세포도말과 세포군집절편 슬라이드의 판독은 2명의 병리의사가 모든 슬라이드를 광학현미경하에서 통상적인 암종세포의 판정기준에 따라 재검토하였다. 반응성 삼출액 36예는 모두 충분한 양의 검체였기 때문에 5장의 세포도말 슬라이드와 세포군집절편을 얻을 수 있었으며 이들은 모두 암종성 삼출액과 같은 과정을 거쳐 점액 및 면역 세포화학적 염색을 시행하였다.

### 2. 연구 방법

#### 1) PAS 염색

중성 점액화학적 검사를 위해 PAS 염색을 선택하였으며 염색반응의 판정기준은 배경 색깔보다 염색 강도가 훨씬 높은 세포질내 적홍색 혹은 적갈색의 경계가 뚜렷하고 불규한 크기의 원형 혹은 난원형의 과립들이 관찰될 때 양성으로, 염색 반응이 보이지 않거나 미만성의 단조롭고 연한 갈색으로 염색되면 비특이성일 가능성이 높아 음성으로 판정하였다<sup>2, 3</sup>. 자궁경부 생검조직의 절편을 양성대조군으로 사용하였다.

#### 2) 면역세포화학적 염색

면역세포화학적 염색은 암종성 삼출액 127예중 Pap 염색이 이미 시행된 세포도말 슬라이드가 4장 이상이 보존되어 있는 25예는 덮개유리를 떼어내고 봉입물질을 자일렌(xylene)으로 완전히 제거한 후 탈색을 하지 않은 상태로 4장의 슬라이드 각각에 1가지씩 면역염색을 시행하였고, 세포도말 슬라이드 수가 1장 내지 3장이 보존되어 있었던 78예는 광학현미경으로 관찰하여 암종세포가 비교적 고르게 흩어져 있는 부위를 DAKO wax pen으로 2군데 내지 4군데 경계를 설정하여 분리한 후 한 슬라이드에 2가지 내지 4가지의 서로 다른 면역염색을 각각 시행하였다. 세포군집 절편이

제작된 24예는 파라핀 포매피를 4 μm 두께로 박절하여 탈파라핀 과정을 5분간 3회 거친 후 면역염색을 시행하였다. 세포면역화학적 염색은 도말슬라이드와 파라핀에 포매된 세포군집 절편에서 labelled streptoavidin-biotin(LASB) 방법을 이용하였다. 일차항체는 CEA(monoclonal, 1:50, Dako, Glostrup, Denmark), EMA(monoclonal, prediluted, 1:1, Dako, Carpinteria, CA), CK(monoclonal, 1:100, Dako, Glostrup, Denmark) 및 vimentin(monoclonal, 1:200, Dako, Glostrup, Denmark)을 사용하였다. 1차 항체와 이후의 과정은 DAKO사의 LSAB kit2를 사용하였다.

염색 방법은 준비된 세포도말 슬라이드와 군집절편은 포화 알코올을 거쳐 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위해 0.3% 과산화수소-메타놀에 10분간 처리 후 증류수로 세척하였다. 그 후 인산염 완충액에 5분간 처리 후 실온에서 10분간 일차항체와 반응시켰다. 그 다음 biotin이 부착된 이차항체에 10분 동안 실온에서 반응시키고 수세한 후 streptavidinalkaline peroxidase에 10분 동안 반응시킨 다음 10분간 수세하였다. AEC(aminoethyl carbazole)를 5분간 도포하여 발색하고 10% Meyer's hematoxylin으로 대조염색 후 봉입하였다. 검체의 양이 불충분하거나 의뢰된 도말슬라이드의 수가 부족한 일부 예에서 PAS 염색과 면역세포화학적 염색의 일부 종목을 시행하지 못한 경우와 PAS 및 면역염색시 도말세포가 씻겨 버려 만족스러운 결과가 나오지 않은 예들은 제외하였다. 이 결과 악성 장액성삼출액 127예중 PAS는 94예, CEA는 124예, EMA는 109예, CK는 106예 및 vimentin은 81예에서 염색이 시행되었다.

면역염색의 분포와 강도는 두명의 병리전문 의가 임상정보, 조직소견 및 세포소견을 모르는 상태에서 판독되었으며 양성과 음성의 판단 기준은 400배의 고배율 시야에서 전체 세포중 양성세포가 5개 이상 관찰되면 양성, 4개

이하 보이면 음성으로 간주한다는 Ghosh 등<sup>9)</sup>의 보고를 근거로 하였다.

## 결 과

장액성 삼출액의 조직학적 및 세포학적 진단이 일치하는 127예의 악성 삼출액과 36예의 양성 반응성 삼출액의 점액 및 면역 세포화학적 염색 결과는 Table 1과 같고 원발부위와 조직형에 따른 결과는 Table 2와 같다.

### 1. PAS 염색

PAS염색은 127예의 암종 환자중 94예에서 시행되었으며 양성율은 49%(46/94)였다(Table 1). 경계가 명확하고 선명한 자홍색 혹은 적갈색의 소과립은 선암세포에서 주로 관찰되었고 일부에서는 강내에도 양성 물질이 나타났다(Fig. 1-A). 원발부위에 따라 분류하면 유방 100%(2/2), 방광 100%(1/1), 폐 66%(19/29), 위장관 53%(19/36), 췌장 50%(1/2), 자궁경부 33%(1/3), 간장 33%(1/3), 난소 15%(2/13), 자궁내막 0%(0/2), 식도 0%(0/1), 담관 0%(0/1) 및 신장

Table 1. Results of Mucin Cytochemistry and Immunocytochemical Panel in Benign and Malignant Serous Effusions

Stains	Malignant effusion (%)	Benign Effusion (%)
PAS	46/ 94(49)	0/36( 0)
CEA	60/124(48)	0/36( 0)
EMA	97/109(89)	7/36(19)
CK	93/106(88)	28/36(78)
Vimentin	20/ 81(25)	27/36(75)

PAS: periodic acid-Schiff stain  
 CEA: carcinoembryonic antigen  
 EMA: epithelial membrane antigen  
 CK: cytokeratin

Table 2. Results of mucin cytochemistry and immunocytochemical panel according to primary tumor site and histologic type

Primary site	Stains	PAS (n=94)	CEA (n=124)	EMA (n=109)	CK (n=106)	Vimentin (n=81)
<b>Lung</b>						
AC		17/22	17/28	23/23	20/21	3/15
SCC		1/5	2/8	4/6	5/5	0/3
SMCC		0/1	0/4	1/4	2/4	0/2
LCC		1/1	2/2	2/2	2/2	1/2
Breast AC		2/2	2/2	2/2	1/2	
Esophagus SCC		0/1	1/1	1/1	1/1	
Stomach AC		17/32	23/46	36/40	34/40	5/30
Duodenum AC		1/1	0/1	1/1	1/1	1/1
Colon AC		1/3	4/4	4/4	3/3	1/2
<b>Liver</b>						
AC		1/2	2/3	3/3	3/3	2/3
HCC		0/1	0/2	1/2	1/2	0/2
CBD AC		0/1	1/1	1/1	1/1	1/1
Pancreas AC		1/2	2/2	1/1	2/2	0/1
Kidney RCC		0/1	0/1	1/1	1/1	1/1
UB TCC		1/1	0/1	1/1	1/1	0/1
Prostate AC			1/1			
<b>Ovary</b>						
MCA		1/4	2/3	3/3	3/3	0/3
SCA		0/8	0/7	6/7	7/7	3/7
CL		1/1	0/1	1/1	1/1	1/1
Endometrium AC		0/2	0/2	1/2	2/2	0/2
<b>Cervix</b>						
AC		1/1	1/2	2/2	1/2	0/2
SCC		0/2	0/2	1/2	1/2	1/2
<b>Total(%)</b>		<b>46/94(49)</b>	<b>60/124(48)</b>	<b>97/109(89)</b>	<b>93/106(88)</b>	<b>20/81(25)</b>

PAS: Periodic acid-Schiff, CEA: Carcinoembryonic antigen, EMA: Epithelial membrane antigen, CBD: Common bile duct, CK: Cytokeratin, CL: Clear cell carcinoma, HCC: Hepatocellular carcinoma, LCC: Large cell carcinoma, MCA: Mucinous adenocarcinoma, PC: Papillary carcinoma, RCC: Renal cell carcinoma, SCA: Serous adenocarcinoma, SCC: Squamous cell carcinoma, SMCC: Small cell carcinoma, TCC: Transitional cell carcinoma, UB: Urinary bladder

0%(0/1) 등으로 나타났다(Table 2). 반응성 중피 세포를 포함하는 양성 반응성 환자는 36예 중 26예는 전혀 반응하지 않는 음성이었고(Fig. 2-A), 8예는 미만성의 연한 적갈색이 세포막

혹은 그 주위에 국한되어 음성 반응으로 해석 하였으며 나머지 2예에서는 4개 이하의 중피 세포에서 약양성의 자홍색의 미세과립이 수개 씩 세포 침단부에 인정되었으나 위양성일 가

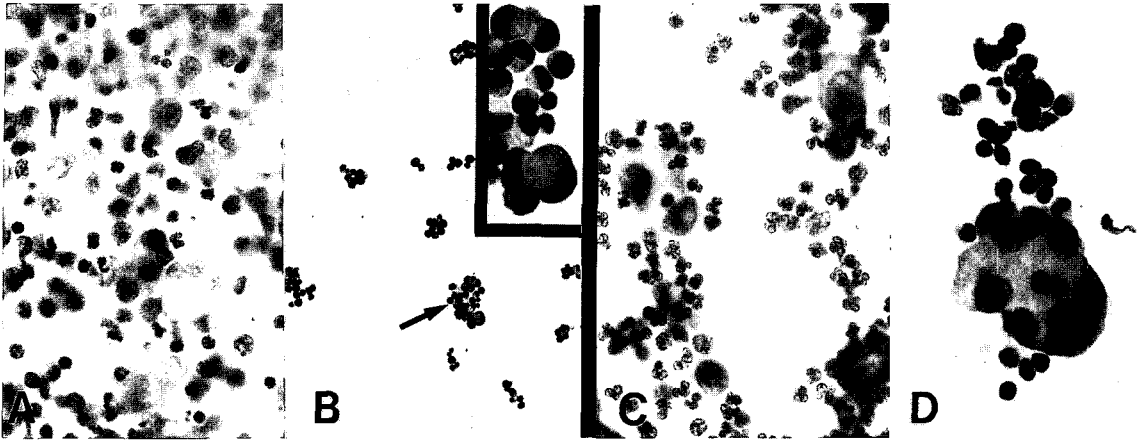


Fig. 1. Mucin and immunocytochemical panel of carcinomatous peritoneal effusions from gastric carcinomas. Carcinomatous cells are strongly positive with PAS(A), CEA(B), EMA(C) and vimentin(D). Carcinoma cells(D) and reactive mesothelial cells with mononuclear leukocytes are synchronously expressed with vimentin. Inset is high magnification( $\times 400$ ) of arrowed area(B)(A;  $\times 400$ , B;  $\times 40$ , C;  $\times 400$ , D;  $\times 400$ ).

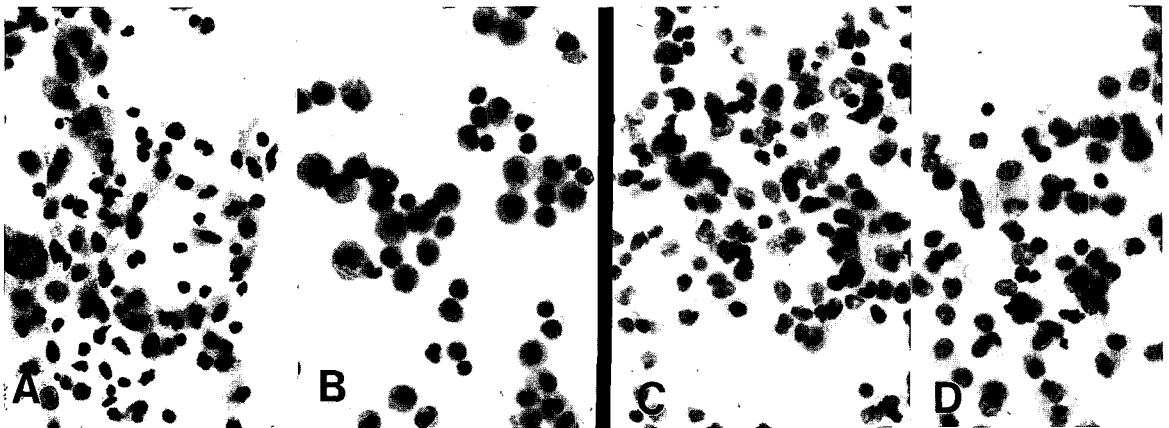


Fig. 2. Mucin and immunocytochemical panel of pleural effusion from pneumonia. Reactive mesothelial cells show no reaction for PAS(A), CEA(B), EMA(C) and weakly or moderately positive reaction for vimentin(D) (A, B, C, and D;  $\times 400$ ).

능성이 높아 음성으로 간주하였다<sup>10)</sup>. 암종세포에 대한 PAS 염색의 감수성은 49%(46/94)로 비교적 낮았으나 반응성 중피세포에서 모두 음성(0/36)이므로 암종세포에 대한 PAS 염색의 특이성은 100%였다.

## 2. 면역세포화학적 염색

CEA 항체에 대한 암종세포의 양성율은 48%(60/124)였다(Table 1). 양성 반응을 보인 악성 세포는 대부분이 세포질에 미만성으로 분포하

였고(Fig. 1-B) 일부는 변연 혹은 주위에 편재하는 경향도 관찰되었으며, 일부 예에서는 악성세포가 동시에 양성과 음성으로 염색되었다. PAS 음성인 48예중 8예가 CEA 항원에 양성 있었고 CEA에 음성인 64예중 4예가 PAS에 양성 반응을 보였다. 원발부위에 따라 양성율을 세분하여 보면 유방 100%(2/2), 췌장 100%(2/2), 담관 100%(1/1), 식도 100%(1/1), 전립선 100%(1/1), 위장관 53%(27/51), 폐 50%(21/42), 간 40%(2/5), 자궁경부 25%(1/4), 난소 18%(2/11), 신장 0%(0/1), 방광 0%(0/1) 및 자궁내막 0%(0/2) 등의 순이었다(Table 2). 양성 반응성 삼출액 36예는 전부 음성이었고(Table 1)(Fig. 2-B) 암종세포에 대한 CEA의 특이성은 100%였다. 호중구 백혈구와 단핵구는 드물게 양성 반응을 나타냈다.

암종세포에서 EMA의 양성율은 89%(97/109)로 매우 높은 감수성을 나타냈다(Table 1). 암종세포의 염색 분포상은 너무나 다양하여 일정한 유형을 정할 수 없었다(Fig. 1-C). 반응성 중피세포는 36예중 7예(19%)에서 양성 있었고 36예중 29예(81%)가 음성을 보였다(Table 1). 양성 반응을 나타내는 예에서는 반응성 중피세포의 세포질과 세포막에 대부분이 약양성 혹은 중등도로 발현하였으며 일부에서 강양성으로 염색되었다(Fig. 2-C). 암종세포와 같이 염색 반응의 분포상태는 특징적인 것이 없었다. 양성 반응성 삼출액 36예중 7예(19%)에서 양성 반응을 나타내어 EMA에 대한 암종세포의 특이성은 81%로 비교적 높았다.

암종세포에서 CK에 대한 양성율은 88%(93/106)였고 양성 반응성 삼출액 36예중 28예(78%)에서 양성이었다(Table 1). 면역 반응의 분포는 반응성 중피세포와 악성세포 모두에서 다양하여 분포상의 특징을 정할 수 없었다. 암종세포에 대한 CK의 특이성은 22%로 매우 낮았다.

Vimentin 항체에 대한 암종세포의 양성율은

25%(20/81)이었다(Table 1)(Fig. 1-D). 반응성 중피세포의 양성율은 75%(27/36)(Table 1)(Fig. 2-D)로 중피세포가 암종세포보다 훨씬 높은 양성율을 나타냈으며 암종세포에 대한 vimentin의 특이성은 25%이었다.

## 고 찰

장액성 삼출액 검체에서 PAS 염색법을 이용한 중성점액에 대한 세포화학적 염색은 암종세포의 확인을 위해 간단하고 경제적인 검사법이나 암종세포에 대한 양성율이 37~56%로 감수성이 저조한 단점이 있다<sup>2-3</sup>. 암종성 삼출액의 세포도말표본을 PAS 염색한 결과 선암종에서 Shield 등<sup>2</sup>)은 양성율이 37%(38/102), Cibas 등<sup>3</sup>)은 56%(22/39), 그리고 Warnock 등<sup>10</sup>)은 폐암종 조직에서 61%(27/44)로 보고하였다. 저자의 결과에서 암종은 양성율이 49%로 Cibas 등<sup>3</sup>)의 성적보다는 약간 낮았으나 Shield 등<sup>2</sup>)의 성적보다는 훨씬 높았다. 양성율 49%는 선암종을 위시한 모든 암종에 대한 양성율이었으므로 이를 다시 선암종만 분리해서 비교하면 양성율이 52%(43/82)로서 Shield 등<sup>2</sup>)의 성적보다 더욱 높아졌고 Cibas 등<sup>3</sup>)의 결과와는 더욱 근접하였다.

PAS 염색에서 양성 반응이 나타날 때는 일단 암종일 가능성이 매우 높아 반응성 중피세포와 암종세포의 감별에 믿을 수 있는 검사법이나 음성일 때는 점액을 분비하지 않는 암종이 흔히 있기 때문에 암종을 부정할 수 없다. 이러한 경우는 통상적인 염색에 의한 세포형태학적 소견과 더불어 면역세포화학적 방법을 위시한 다른 보조적 진단 기술의 병행 및 임상정보 등을 종합해서 판단하는 것이 바람직하다. Warnock 등<sup>10</sup>)은 악성세포에서 몇가지의 PAS 양성인 비점액성 봉입체들이 세포질내에서 관찰되므로 이들을 진정한 중성 점액과 구별해야

할 필요성을 강조하였다. 중성 점액은 붉은 테두리에 둘러싸여 있는 경계가 분명한 적색의 공포상, 공포 주위에 달무리(halo)를 거느리거나 혹은 공포 중심부에 붉은 망상구조물, 그리고 세포의 PAS 양성 분비물이 악성세포의 세포질 첨단부 가까이에서 관찰되면 선암 진단의 판정 기준이 된다고 하였다. 그러나 PAS 양성인 세포의 분비물이 악성세포의 세포질 첨단부위에 미세과립 형태로 산재해 있거나 군집해 있으면 아무리 흔히 관찰되더라도 PAS 양성인 lysosomes과 구별이 안되므로 선암종이든 중피종이든 점액 분비의 판정기준으로 사용할 수 없고, 그외 PAS 양성인 콜로이드 소적(colloid droplet)과 탐식세포도 점액과 감별되어야 한다고 하였다<sup>10)</sup>. 본 연구에서도 반응성 삼출액 2예에서 첨단부에 수개의 약양성을 보이는 미세과립을 포함하고 있는 2개 내지 4개의 중피세포를 관찰할 수 있었으나 유의성을 인정할 수 없어 음성으로 해석하였다.

원발부위에 따른 PAS 양성율에 대해 Shield 등<sup>2)</sup>은 102예의 악성 삼출액에서 췌장 75%, 위장관 71%, 난소 38%, 간 33%, 폐 33% 및 유방 11% 등으로 보고하였다. 이 결과는 저자의 결과인 유방 100%, 방광 100%, 폐 66%, 위장관 53%, 췌장 50%, 간 33%, 자궁경부 33% 및 난소 15% 등과 비교해 볼 때 폐와 유방의 양성율은 높았고 간은 같았으며 위장관, 난소, 췌장은 본 연구에서 낮았다. 그러나 두 연구에서 이용한 관찰대상 원발부위와 조직형이 상이하여 양성율을 일률적으로 비교하기 어려웠다. 본 연구에서 난소의 양성율이 매우 저조한 것은 PAS 음성 종양으로 알려진 장액성 선암이 난소암종 13예중 8예로 많았기 때문으로 생각된다. 본 연구에서 폐의 편평상피세포암 5예중 1예와 대세포암 1예 및 방광의 이행상피세포암 1예에서 PAS 양성 반응을 나타내었다. 이러한 암종은 폐와 방광을 포함한 여러 장기의 편평상피세포암, 대세포암 및 이행상피세포

암의 조직검사에서 시행한 PAS 염색에서도 종종 양성 반응을 관찰할 수 있었던 저자의 경험에 의하면 PAS 양성물질은 순수한 중성 점액일 수도 있고 비점액성 물질일 가능성도 있으나 본래 편평상피세포가 존재하지 않는 기관지에서 유래한 편평상피세포암은 기원세포의 성질을 갖고 있을 가능성이 충분히 있으므로 진정한 점액성 물질로 생각하는 것이 타당할 것 같다. 방광의 이행상피세포 역시 편평상피세포와 점액분비세포의 성질을 공유하고 있을 가능성이 높으므로 PAS 양성 반응은 충분히 예상할 수 있을 것 같다. 그러므로 PAS에 양성 반응을 보이는 모든 암종을 반드시 선암종으로 진단해서는 안될 것으로 사료된다.

PAS 염색에 대한 반응성 중피세포의 양성율은 Shield 등<sup>2)</sup>과 Cibas 등<sup>3)</sup>의 세포학적 검사와 Warnock 등<sup>10)</sup>의 조직 검사에 모두 음성 반응을 나타냈다. 본 연구에서도 역시 반응성 중피세포는 모두 음성 반응을 보여 이들의 보고와 일치하였다. 반응성 중피세포의 세포질에 지단백과 같은 디아스타제에 저항성이 있는 비점액성 물질이 포함되어 있어 양성 반응을 나타내는 경우가 있어 판독시 주의를 요하는 경우가 있다<sup>11)</sup>. 이런 경우는 대부분이 연한 적색 혹은 희미한 적갈색의 양성물질이 세포질에 미만성으로 관찰되므로 점액 분비물과 감별이 가능하다.

Cibas 등<sup>3)</sup>은 PAS 음성인 11예중 3예가 CEA에 양성반응을 나타내므로 PAS 및 CEA 염색을 동시에 시행한 후 양자를 종합하였을 때 전체 양성율은 80%로 각각을 단독으로 염색했을 때보다 양성율이 증가하므로 두가지 염색을 같이 시행할 것을 추천하였다. 본 연구에서도 PAS 음성인 48예 중 8예가 CEA 양성에서 양자를 종합한 양성율이 49%에서 57%로 향상되어 Cibas 등<sup>3)</sup>의 결과와 일치하였다. 본 연구와 문헌을 종합하면 PAS 염색의 암종세포에 대한 감수성은 37~56%로 비록 낮지만 반



음성 중피세포에서 음성 반응을 나타내므로 암종세포에 대한 특이성은 100%로 매우 높다는 사실이 입증되었다. 그러므로 PAS 염색은 장액성 삼출액 검체에서 전이성 악성 종양의 세포학적 진단을 위해서는 면역세포화학적 염색법과 더불어 필수적인 검사법으로 생각한다.

CEA는 장액성 삼출액 검체에서 전이성 선암의 표지자로 널리 연구되어 왔다<sup>2-5, 7-8</sup>). 많은 연구자들은 CEA가 암종, 특히 선암에 대해 감수성과 특이성이 있는 면역 표지자로 믿고 있으나 감수성은 차이가 매우 심하다. 이러한 감수성의 차이는 고정방법과 제작과정 등<sup>12-13</sup>)에 의해 차이가 날 수 있지만 더욱 더 문제가 되는 것은 상품화된 CEA 항체의 다양성, 판독자의 주관, 종양의 원발부위와 조직형, 그리고 관찰대상 수 등<sup>2, 7, 11, 14</sup>)에 따라 더욱 큰 차이가 생기는 것으로 보고되고 있다. 장액성 삼출액에서 CEA 항체를 이용한 면역염색에서 암종세포의 감수성은 21~100%<sup>2-5, 7, 8, 14-19</sup>)로 차이가 매우 심하나 대체로 관찰 대상수가 많을수록 양성율이 떨어지는 경향이 뚜렷하였다. 본 연구에서 암종세포에 대한 CEA 양성율은 48%로 Shield등<sup>2</sup>)의 성적 52%보다는 다소 낮았으며 Ruitenbeek등<sup>5</sup>)의 45%보다 약간 높았다. 타연구<sup>4, 8, 17, 18</sup>)보다 본 연구의 결과가 매우 저조한 양성율을 보인 것은 여러 가지 원인이 있겠으나 관찰대상 수가 많고, 원발병소와 조직형이 다양하며, 비선암인 예가 많이 포함되어 있고, 또 도말슬라이드의 장기간 보관으로 항원성의 소실로 인한 염색성의 저하 등이 중요한 원인으로 작용했으리라 생각된다. 그러나 관찰대상 수가 저자와 비슷하고 원발병소가 비교적 다양한 Shield등<sup>2</sup>)의 성적 21%와 비교해 보면 저자의 성적이 훨씬 높은 양성율을 보였다. 본 연구에서 선암종의 CEA 양성율이 53%로 전체 암종의 48%보다 양성율이 5% 증가하였다. 이는 CEA에 대한 양성율이 원발병소의 조직형에 따라 차이가 날 수 있다는 기

존 연구 보고<sup>2, 7, 14</sup>)에 부합하였다. 이상을 종합해 보면 암종세포에 대한 CEA 양성율은 여러 가지 많은 원인이 있겠지만 관찰대상수, 원발부위 및 조직형에 크게 좌우되는 것으로 생각된다.

Cibas등<sup>3</sup>)은 CEA 양성인 선암 28예(28/39; 72%)의 대부분(20/28; 71%)이 PAS 양성이고 PAS 음성인 11예중 3예가 CEA에 양성반응을 나타내므로 PAS 및 CEA 염색을 동시에 시행한 후 양자를 종합하였을 때 전체 양성율은 80%(31/39)로 각각을 단독으로 염색했을 때보다 양성율이 증가하므로 두가지 염색을 동시에 시행할 것을 권장했다. 본 연구에서도 CEA 음성인 64예 중 4예가 PAS 양성이어서 양자를 종합한 양성율이 48%에서 52%로 향상되어 Cibas등<sup>3</sup>)의 의견과 일치한다.

원발병소에 따른 양성율은 연구자들<sup>14, 17, 19</sup>)에 따라 다소 차이가 있으나 일반적으로 폐와 위장관에서 양성율이 가장 높고 그다음 유방, 난소, 신장, 간 등의 순이었다. 본 연구에서 장기별에 따른 양성율을 보면 비교적 관찰 예가 많아 유의성이 인정되는 폐, 위장관 및 난소의 양성율은 타보고자의 성적과 유사하였다. 본 연구에서 특히 난소 선암의 양성율이 불량한 것은 CEA 항원을 분비하지 않는 장액성 선암이 많았기 때문으로 해석된다. 본 연구에서 폐의 편평상피세포암 8예중 2예와 대세포암 2예중 2예, 그리고 식도의 편평상피세포암 1예에서 예기치 못했던 CEA 양성반응이 관찰되었다. Chess와 Hajdu<sup>4</sup>)는 자궁경부의 편평상피세포암 1예와 요도의 편평상피세포암 2예등 3예의 비선암종에서 양성반응을 보고하였다. 그들은 비선암종에서 예상하지 못했던 양성반응은 항원이 이소성(ectopic)으로 발현된 것인지 기술적 혹은 해석상 문제에 의해 기인한 것인지를 확인할 방법이 없기 때문에 위양성으로 해석하는 것보다 차라리 미립 반응(aberrant reaction)으로 설명하는 것이 타당하다고 하였다. 또 이

소성 항원 표현의 다른 원인으로는 삼출액에서 성장하는 악성세포는 탐식작용에 의해 외부 항원을 획득할 가능성이 있기 때문에 탐식작용에 의한 양성 반응도 한 번쯤 생각해 봐야 된다고 하였다. 본 연구에서 비선암종 25%에서 CEA 양성 반응이 나타나므로 CEA에 양성인 암종이라해서 모두 선암종으로 진단할 수 없음이 분명하였다.

CEA 항체를 이용한 면역염색에서 반응성 증피세포의 감수성은 대부분의 보고<sup>2, 6, 8, 14, 16, 19</sup>에서 음성으로 나타나나 Chleda와 Clarke<sup>15</sup>의 3%, Tickman 등<sup>7</sup>의 연구에서 반응성 증피세포의 5.3%로 일부 보고에서 국소적으로 약양성이 보고되고 있다. 본 연구에서도 반응성 증피세포는 모두 음성으로 나타나 대부분의 기존 보고와 일치하였다. 국소적으로 약양성을 보이는 경우는 CEA 항체가 CEA와 유사한 항원, 즉 비CEA항원(non-CEA antigen)과 교차반응에 기인한 것으로 해석하고 있다<sup>20</sup>. 비 CEA항원은 ABO 혈액군에 존재하는 당단백이 CEA와 항원성을 공유하기 때문에 골수성 기원의 다핵 백혈구와 단핵구에서 교차반응으로 위양성이 발현되는 것으로 생각하고 있다. 호중구의 양성 반응은 판독상 큰 문제가 없으나 단핵구나 대식세포의 양성은 상당수의 예에서 암종세포와 감별에 주의를 요한다<sup>2, 21</sup>. 이런 경우는 CK 등 다른 종류의 면역염색 결과와 세포의 형태학적 소견을 연계해서 판독해야 한다. 본 연구에서 사용한 단클론성 CEA 항체(DAKO, Glostrup, Denmark)는 호중구와 단핵구에서 매우 드물게 양성 반응을 나타내어 암종세포의 위양성 발현 가능성이 매우 낮을 것으로 추정된다.

신체의 거의 모든 세포에 널리 분포되어 있는 EMA의 검출이 장액성 삼출액 검체에서 암진단을 위해 유용한 것인가 하는 점에 관해 많은 연구가 진행되어 왔으나 반응성 증피세포와 암종세포에 대해 다양한 감수성을 나타내

로 이들의 감별에 제한성이 있는 것으로 알려져 아직까지 논쟁이 계속되고 있다. 암종세포에 대한 EMA의 양성율을 보면 대부분의 보고자<sup>2~3, 5, 7, 14~15, 17~19, 22</sup>에서 감수성이 86~100%로 매우 높았다. 본 연구에서 암종세포에 대한 양성율이 88%로 대부분의 타보고자의 결과보다 낮은 편이었다. 반응성 증피세포에 대한 EMA의 감수성은 0~71%로 보고<sup>2, 5, 7~8, 15, 17, 19, 22</sup>에 따라 차이가 나나 Ruitenbeek등<sup>5</sup>의 관찰 예수가 7예인 경우를 제외하면 0~19%이다. 본 연구에서도 반응성 증피세포에 대한 양성율은 19%로 비교적 낮은 편이었다. Mezger등<sup>19</sup>은 일반적으로 반응성 증피세포가 암종세포보다 EMA 양성율이 매우 떨어지는 이유에 대해 증피세포가 암종세포보다 삼출액으로 드물게 탈락하기 때문으로 해석하고 있다. EMA가 암종세포에 대해 감수성과 특이성이 상당히 높으므로 일부 학자들<sup>7, 8, 17</sup>은 EMA가 반응성 증피세포와 종양세포의 감별에 가장 유용한 면역표지자라 하였으나 많은 기존 보고의 삼출액 검체에서 악성세포에 대해 양성율이 81~100%로 매우 높아 감수성이 뛰어난 표지자임은 분명하다. 반응성 증피세포에서도 보고자에 따라 다소 다양한 발현율을 나타내므로 증피세포와 암종세포간의 감별에 특이성이 CEA보다 떨어지는 표지자로 인정하고 있다. 본 연구에서 EMA의 암종세포의 감수성은 88%이고 반응성 증피세포에 대한 암종세포의 특이성은 81%로 양자 모두 상당히 높아 반응성 증피세포와 암종세포의 감별에 유용한 면역표지자이나 CEA 보다는 특이성이 다소 낮으므로 가장 유용한 면역표지자로 볼 수 없다는 다른 연구자들의 결론과 일치하였다.

Coleman등<sup>23</sup>에 의하면 반응성 증피세포는 일부 강양성을 보이는 경우를 제외하고는 대체로 암종세포보다 염색 강도가 떨어지므로 이를 이용하면 반응성 증피세포와 암종세포간의 감별에 도움을 받을 수 있다고 하였다. 본

연구에서도 암종세포가 반응성 중피세포보다 훨씬 강하게 염색되어 이들의 견해에 동의한다. 그리고 Leong등<sup>24)</sup>은 반응성 중피세포는 세포의 한표면에 국한하여 발현하고 선암세포는 세포질내 미만성으로 또 중피종 세포에서는 세포막 주위에 두껍게 표현되므로 이들을 감별할 수 있다고 하였다. 저자의 성적에서는 중피세포와 암종세포에서 이러한 분포상의 특이 점은 관찰할 수 없었다.

CK는 암종세포와 중피세포 양자 모두에 높은 감수성을 나타내어 이들의 감별 진단으로 사용할 수 없는 면역표지자로 알려져 있다. CK에 대한 양성율은 암종세포에서 76~100%<sup>3-5, 16-17, 22, 25-26)</sup>이었고 반응성 중피세포의 양성율은 80~100%<sup>5, 16-17, 22)</sup>로 암종세포와 반응성 중피세포에서 매우 높은 감수성을 보였다. 본 연구의 성적 역시 양성율이 반응성 중피세포 78% 및 암종세포 88%로 다른 보고자들의 결과보다는 다소 낮았으나 양자 모두에서 높게 관찰되었다. 본 연구에서 암종세포의 감수성이 88%이고 반응성 중피세포에 대한 암종세포의 특이성이 22%로 매우 저조하여 반응성 중피세포와 암종세포간의 감별 진단에 CK를 이용할 수 없다는 다른 대부분의 보고자들과 의견을 같이한다.

Ramaekers등<sup>26)</sup>은 CK 면역반응의 분포상이 선암세포는 침단부위나 기저부위의 변연을 따라 발현되고 반응성 중피세포는 미만성으로, Kahn등<sup>25)</sup>은 선암세포의 세포질내에 나무가지 모양을 나타내고 반응성 중피세포에서는 국소 혹은 핵주위에서 관찰되며, 그리고 Cibas등<sup>3)</sup>은 면역반응 양상이 선암에서는 변연형이 우세하고 중피종이나 반응성 중피세포에서는 미만형이나 핵주위형이 우세하다고 하였다. 한편 Battifora와 Kopinski<sup>21)</sup>는 염색반응의 분포상이 매우 다양하여 진단학적으로 도움이 될 수 있는 특이한 분포상을 관찰할 수 없었다고 하였다. 이러한 염색반응의 분포상에 대한 보고를

염두에 두고 자세히 관찰하였으나 본 연구에서도 역시 염색상이 너무나 다양하게 관찰되어 특이성을 부여할 수 없다는 Battifora와 Kopinski<sup>21)</sup>의 보고와 일치하였다.

Vimentin은 간엽성 기원의 세포에 주로 존재하는 중간사상체이어서 중피세포와 암종세포의 감별에 유의한 표지자가 될 수 있는 것으로 생각하였으나 많은 연구자들의 장액성 삼출액에 대한 연구 결과, 현재는 암종세포에 대해 감수성과 특이성이 낮은 면역표지자로 인정되고 있다. 암종세포에 대한 양성율은 0~50%<sup>4-5, 7-8, 16)</sup>로 비교적 다양한 차이를 보였다. 본 연구에서 암종세포에 대한 양성율은 25%로 중간 정도의 결과를 보였다. 이와같이 vimentin이 암종세포에서 기대하지 않은 높은 양성율이 발생하는 이유에 대해 Ramaekers등<sup>26)</sup>은 암종세포가 삼출액으로 탈락하거나 부유되었을 때 환경에 기능적으로 적응하기 위해 vimentin을 합성할 수 있는 능력을 얻기 때문으로 해석하였고, Ramaekers등<sup>27)</sup>의 다른 연구에서는 폐, 신장, 자궁내막, 췌장, 난소, 갑상선, 유방, 간, 및 담관에서 발생한 암종과 편평세포암 등 일부 고형성 상피종양은 CK 및 vimentin이 동시에 발현되므로 암종세포에 대한 vimentin의 특이성과 진단학적 가치가 떨어진다고 하였다. 그리고 Azumi와 Battifora<sup>28)</sup>는 한 종류의 항체가 다른 중간사상체와 교차반응을 일으키므로 한 세포에서 두가지의 사상체가 동시에 발현할 수 있는 가능성도 한번쯤 생각해야 한다고 하였다.

반응성 중피세포에 대한 양성율은 대부분의 연구 결과에서 74~100%<sup>5, 7-8, 16)</sup>로 매우 높은 감수성을 보였다. 본 연구에서는 반응성 중피세포의 양성율이 75%로 비교적 낮은 편이었다. 정상 중피세포에서는 vimentin이 검출되지 않으나 조직 배양이나 염증 혹은 종양 등 병적 상태에서 반응성으로 증식할 때는 높은 검출율을 보이는 것은 잘 알려져 있다<sup>29, 30)</sup>. 본

연구에서 이용한 반응성 삼출액 36예는 간경화증, 심부전증, 신부전증 및 감염증 등으로 풍부한 반응성 중피세포가 포함된 삼출액을 선택하였으므로 양성율이 매우 높을 것으로 예상했으나 기존 보고보다 저조하였다. 본 연구의 결과 반응성 중피세포와 암종세포에 대한 vimentin의 감수성은 각각 75% 및 25%였다. 암종세포의 감수성과 특이성은 25%로 매우 낮아 반응성 중피세포와 암종세포의 감별을 위해 사용할 수 없는 면역표지자임이 인정되었다.

## 결 론

저자는 1988년 1월 1일부터 1998년 1월 31일까지 10년 1개월간 성균관의대 마산삼성병원 해부병리과에 의뢰된 악성 장액성 삼출액 중 조직학적으로 원발병소가 확인된 127예와 양성 반응성 질환으로 밝혀진 36예의 장액성 삼출액을 대상으로 하여 PAS, CEA, EMA, CK 및 vimentin 등으로 구성되는 panel 염색을 시행하여 반응성 중피세포와 암종세포의 감별에 대한 유용성과 암종세포의 감수성과 특이성을 검색한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 악성 장액성 삼출액 94예의 암종세포에서는 PAS 양성율은 49%였고 반응성 장액성 삼출액 36예의 중피세포는 모두 음성이었다. 암종세포의 감수성은 49%이고 특이성은 100%였다.
2. 악성 장액성 삼출액 124예의 암종세포는 CEA 양성율이 48%였고 양성 반응성 삼출액 36예의 중피세포는 전부 음성을 보였다. 암종세포의 감수성은 48%이고 특이성은 100%였다.
3. PAS 및 CEA 염색을 단독으로 시행한 후의 암종세포의 양성율보다 양자를 동시에 시행

한 후의 양성율이 향상되었다.

4. 악성 장액성 삼출액 109예에서 EMA의 양성율은 89%였고 양성 반응성 삼출액 36예는 19%이었다. 암종세포에 대한 감수성은 89%이고 특이성은 81%이었다.
5. 악성 장액성 삼출액 106예에서 CK의 양성율은 88%였고 반응성 장액성 삼출액 36예는 78%이었다. 암종세포에 대한 감수성은 88%이고 특이성은 22%였다.
6. 악성 장액성 삼출액 81예에서 vimentin 양성율은 25%였고 양성 반응성 삼출액 36예는 75%이었다. 암종세포의 감수성은 25%이고 특이성은 25%였다.

이상의 결과를 종합하면 PAS와 CEA는 암종세포에 대한 감수성은 다소 낮지만 특이성이 매우 높아 가장 믿을 수 있는 염색으로 입증되었고 EMA는 특이성이 PAS나 CEA보다는 다소 낮으나 감수성이 매우 높았으므로 채강에서 채취된 장액성 삼출액에서 반응성 중피세포와 암종세포의 감별을 위한 점액 및 면역 세포화학적 panel 염색시 PAS, CEA 및 EMA는 필수적으로 시행하여야 할 염색으로 생각한다.

## 참 고 문 헌

1. Gavin FM, Gray C, Sutton J, Clayden DA, Banks RI, Bird CG: Morphometric differences between cytologically benign and malignant serous effusion. *Acta Cytol* 32:175-182, 1988
2. Shield PW, Callan JJ, Devine PL: Markers for metastatic adenocarcinoma in serous effusion specimens. *Diagn Cytopathol* 11:237-245, 1994
3. Cibas ES, Corson JM, Pinkus GS: The distinction of adenocarcinoma from malignant mesothelioma in cell blocks of effusions. *Hum Pathol* 18:67-74, 1987
4. Chess Q, Hajdu SI: The role of immunoperoxidase staining in diagnostic cytology. *Acta Cytol* 30:1-7, 1986

5. Ruitenbeek T, Gouw ASH, Poppema S: Immunocytology of body cavity fluids: MOV-31, a monoclonal antibody discriminating between mesothelial and epithelial cells. *Arch Pathol Lab Med* 118:265-269, 1994
6. 이지신, 정상우: 체강삼출액의 진단에 있어서 유세포분석에 의한 DNA 함량 측정의 유용성. *대한세포병리학회지* 8:20-26, 1997
7. Tickman RJ, Cohen C, Varma VA, Fekete PS, DeRose PB: Distinction between carcinoma cells and mesothelial cells in serous effusions: Usefulness of immunocytochemistry. *Acta Cytol* 34:491-496, 1990
8. Nance KV, Silverman JF: Immunocytochemical panel for the identification of malignant cells in serous effusions. *Am J Clin Pathol* 95:867-874, 1991
9. Ghosh AK, Mason DY, Spriggs AZ: Immunocytochemical staining with monoclonal antibodies in cytologically "negative" serous effusions from patients with malignant disease. *Clin Pathol* 36: 1150-1153, 1983
10. Warnock ML, Stoloff A, Thor A: Differentiation of adenocarcinoma of the lung from mesothelioma. Periodic acid-Schiff, monoclonal antibodies B72.3 and Leu M1. *Am J Pathol* 133:30, 1988
11. Whitaker D, Shilkin KB: Diagnosis of pleural malignant mesothelioma in life - a practical approach. *J Pathol* 143:147-175, 1984
12. Nadji M, Ganjei P: Immunocytochemistry in diagnostic cytology: A 12-year perspective. *Am J Clin Pathol* 94:470-475, 1990
13. Li CY, Lazcano-Villareal O, Pierre RV, Yan LT: Immunocytochemical identification of cells in serous effusions: Technical consideration. *Am J Clin Pathol* 88:696-706, 1987
14. Esteban JM, Yokota S, Husain S, Battifora H: Immunocytochemical profile of benign and carcinomatous effusions. *Am J Clin Pathol* 94: 698-705, 1990
15. Chleda H, Clarke RE: Immunohistochemistry, its use in the diagnosis of epithelial malignancy in serous effusion. *Acta Cytol* 30:586, 1986
16. Duggan M, Masters CB, Alexander F: Immunohistochemical differentiation of malignant mesothelioma, mesothelial hyperplasia and metastatic adenocarcinoma in seous effusions, utilizing staining for carcinoembryonic antigen, keratin and vimentin. *Acta Cytol* 31:807-814, 1987
17. Lee JS, Nam JH, Lee MC, Park CS, Juhng SW: Immunohistochemical panel for distinguishing between carcinoma and reactive mesothelial cells in serous effusions. *Acta Cytol* 40:631-636, 1996
18. Schested M, Ralfkjaer E, Rasmussen J: Immunoperoxidase demonstration of carcinoembryonic antigen in pleural and peritoneal effusions. *Acta Cytol* 27:124-127, 1983
19. Mezger J, Stotzer O, Schilli G, Bauer S, Wilmanns W: Identification of carcinoma cells in ascitic and pleural fluid: Comparison of four panepithelial antigens with CEA. *Acta Cytol* 36: 75-85, 1992
20. Nap M, Ten Hoor KA, Fleuren GJ: Cross-reactivity with normal antigens in commercial anti-CEA sera, used for immunohistology. The need for tissue controls and absorptions. *Am J Clin Pathol* 79:25-31, 1983
21. Battifora H, Kopinski MI: Distinction of mesothelioma from adenocarcinoma. An immunohistochemical approach. *Cancer* 55:1679-1685, 1985
22. Lauritzen AF: Distinction between cells in serous effusions using a panel of antibodies. *Virchows Arch A* 411:299-304, 1987
23. Coleman DV, To A, Ormerod MG, Dearnaley DP: Immunoperoxidase staining in tumor marker distribution studies in cytologic specimens. *Acta Cytol* 25:205-206, 1981
24. Leong ASY, Parkinson R, Milios J: Thick cell membranes revealed by immunocytochemical staining: A clue to the diagnosis of mesothelioma. *Diagn Cytopathol* 6:9-13, 1990
25. Kahn HJ, Wedad H, Yeger H, Baumal R: Immunohistochemical localization of prekeratin filaments in benign and malignant cells in effusions. *Am J Pathol* 109:206-214, 1982
26. Ramaekers F, Haag D, Jap P, Vooijs PG: Immunochemical demonstration of keratin and vimentin in cytologic aspirates. *Acta Cytol* 28: 385-392, 1984
27. Ramaekers F, Haag D, Moesker O, Jap PHK, Vooijs PG: Coexpression of keratin- and vimentin-type intermediate filaments in human metastatic carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 80:2618-2611, 1983

김병헌 : 점액 및 면역 세포화학적 Panel 염색에 의한 장액성 삼출액내 반응성 증피세포와 암종세포의 감별

28. Azumi N, Battifora H: The distribution of vimentin and keratin in epithelial and non-epithelial neoplasms. A comprehensive immunohistochemical study on formalin- and a alcohol-fixed tumor. *Am J Clin Pathol* 88:286-296, 1987
29. 전호중, 이미자, 이미숙, 정유경, 이영미, 최형호: 단기배양한 증피세포의 면역세포화학적 연구. *대한세포병리학회지* 6:106-115, 1995
30. Connel ND, Rheinwald JG: Regulation of the cytoskeleton in mesothelial cells: Reversible loss of keratin and increases in vimentin during rapid growth in culture. *Cell* 34:245-253, 1983