Tuberculosis and Respiratory Diseases 결핵 및 호흡기질환, Vol. 47, No. 4, Oct, 1999

□원 저□

면역조직화학염색법을 이용한 흉막의 악성중피종과 전이성선암의 감별진단

전남대학교 의과대학 내과학교실, 병리학교실*

고경행, 박창민, 임명수, 김유일, 장일권, 황준화, 임성철, 김영철, 박경옥, 박창수*

= Abstract =

Differential Diagnosis of Pleural Mesothelioma and Metastatic Adenocarcinoma by Immunohistochemistry

Kyung Haeng Ko, M.D., Chang Min Park, M.D., Myung Soo Rim, M.D., Yoo Il Kim, M.D., Il Gweon Jang, M.D., Joon Hwa Hwang, M.D., Sung Chul Lim, M.D., Young Chul Kim, M.D., Kyung Ok Park, M.D., Chang Soo Park, M.D.*

*Department of Internal Medicine and Pathology**
Chonnam National University, Medical School, Kwangju, Korea

Background : Differential diagnosis of pleural malignant mesothelioma from secondary metastatic adenocarcinoma is often difficult. A variety of pathologic techniques have been developed to make a differential diagnosis of carcinoma from mesothelioma. Immunohistochemistry detecting diverse antigenic substances such as CEA, Leu-M1, B72-3, S-100 protein, vimentin, CK and EMA has been claimed to be of value as a panel in the differential diagnosis of adenocarcinoma from mesothelioma.

The aim of this study was to investigate the suitable antibodies to distinguish mesothelioma from metastatic adenocarcinoma and establish candidate markers in a panel.

Methods : Complete, one-hour immunohistochemical staining using antibodies against cytokeratin (CK), epithelial membrane antigen(EMA), S-100 protein, vimentin, B72-3, Leu-M1, and carcino-embryonic antigen (CEA) was applied to cell blocks from 7 mesotheliomas and 7 adenocarcinomas which were confirmed by electron microscopic and histpathologic methods.

Address for correspondence :
Kyung Ok Park, M.D.
Department of Internal Medicine, Chonnam National University, Medical School.
Hakdong 8, Dongku, Kwangju, Korea 501-757
Phone : 062-220-6570 Fax : 062-225-8578 E-mail : kopark@chonnam.chonnam.ac.kr

Results : All adenocarcinomas and 71.4% of mesotheliomas expressed the cytokeratin and EMA. S-100 protein and vimentin were expressed in 57.1% and 42.9% of mesotheliomas and 14.3% and 28.5% of adenocarcinomas, respectively. B72-3 was expressed in all adenocarcinomas, but in none of mesotheliomas. Leu-M1 was positive in 71.4% of the adenocarcinoma and 14.3% of the mesotheliomas. CEA was positive in all adenocarcinomas and 42.9% of mesotheliomas. Leu-M1 and B72-3 were coexpressed in 71.4% of adenocarcinomas but in none of mesothelioma. B72-3 and CEA were coexpressed in all adenocarcinomas, but in none of mesotheliomas.

Conclusion : We concluded that B72-3 immunohistochemistry or panel staining of B72-3 and CEA could be recommanded for the differential diagnosis of pleural mesothelioma from metastatic adenocarcinoma. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 1999, 47 : 478-487)

Key words : Malignant mesothelioma, Immunohistochemistry, B72-3.

서 론

악성중피종은 흉막강, 심낭, 복강을 싸고 있는 중피세포에서 발생하며[1,2] 대부분이 흉막에서(90%) 발생하고, 다음으로 복막(6-10%)[3], 드물게 심낭[4], 고환초막(tunica vaginalis)[5]에서 발생한다. 악성중피종과 석면노출력의 연관성은 1960년 Wagner등[6]이 처음 주장한 이래 여러 보고들[7-9]에서 증명되었으며, 남자에서 호발하는 것으로 알려졌고[10], 일부에서는 석면노출력이 없는 경우에서도 발생이 보고되고 있다[11].

악성중피종의 진단은 임상증상, 흉부 X-선 촬영, 초음파소견과 전산화단층촬영을 이용하여 종양의 성상이나 크기 및 위치를 확인할 수 있고, 확진은 병리조직검사를 통하여 가능하며[13] 최근 흉강경(thoracoscopy)을 이용한 흉막 조직생검방법이 개발되어 조직학적인 진단에 많은 진전을 보이고 있다[12]. 그러나 악성중피종은 종양의 형태학적인 양상이 다양하고, 조직생검시 충분한 생검조직을 얻기가 어려우며, 조직소견이 광학현미경하에서 전이성선암과 비슷하여 진단을 하기가 쉽지 않다[14]. 악성중피종은 전이성선암에 비하여 예후가 나쁘며 석면노출과의 연관성[6-9] 이 알려져 있어 두 종양의 감별진단이 임상적으로 매우 중요하다고 할 수 있다.

두 종양의 감별진단방법으로는 먼저 석면에 노출력 여부와 mucin에 대한 조직화학염색법(Periodic-Acid-Schiff, Alcian blue ±Hyaluronidase)[15-17]이나 전자 현미경소견을 이용하기도 하며[18-20], 최근에는 다양한 단클론항체를 이용한 면역조직화학염색법[17,21-27] 등이 유용한 것으로 알려져 있다. 면역조직화학염색법에 사용되는 항체는 cytokeratin(CK)[21,24,31-34], epithelial membrane antigen(EMA)[28-31], vimentin[24,31], S-100[35,36], carcinoembryonic antigen(CEA)[32,34,37-39], Leu-M1[27,39-42], B72-3[40,43-45] 등을 검출하는데 이용되며, 지난 수년간 개개의 항체에 대한 특이도 및 민감도는 보고자마다 각기 다른 결과들을 보이고 있다.

이에 저자들은 흉막의 악성중피종과 전이성선암에 있어서 두 종양의 감별진단에 사용되는 다양한 단클론항체의 감별진단력을 비교검토하고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

연구대상은 1993년 1월부터 1997년 6월까지 전남대학교병원에서 흉막조직검사상 전자현미경소견에서 악성중피종과 전이성선암으로 진단된 각 7례를 대상

으로 하였다. 악성중피종은 상피형 4례, 육종형 2례, 중복형 1례이었고, 전이성선암의 원발부위는 7례 모두 폐이었다.

2. 방 법

면역조직화학염색법은 Fisher사(Fisher scientific)의 1-hour immunohistochemistry방법[46]을 이용하였다. 종양조직은 포르말린으로 고정된 파라핀 조직을 이용하여, 3㎛ 두께로 잘라서 85℃에서 가열시킨 후 xylene 으로 파라핀을 제거하고, graded ethanol로 재수화시켰다. 45℃에서 0.3% 과산화수소(H_2O_2)가 함유된 메탄올 용액에서 5분간 배양하여 내재성 과산화효소(endogenous peroxidase)의 활성을 차단하였다. 그 후 희석액과 단클론항체를 45℃에서 15분간 반응시켰다(Table 1).

CK와 EMA 단클론항체는 내재성과산화효소 활성을 차단시킨 후 45℃에서 5분간 펩신(pepsin)처리를 하였고, Leu-M1 단클론항체는 실온에서 30분 방치 후 45℃에서 20분간 희석액과 반응시켰다. 각 단계마다 automation buffer로 실온에서 세척하였고, avidin-biotin-peroxidase system[14]을 이용한 immunoperoxidase method로 염색하였다. 조직절편은 45℃에서 10분간 색소원반응을 시행하였고, 대조염색은 hematoxylin으로 실시하였다. 조직 절편은 최

Fig. 1. Long, thin microvilli were identified by electron microscopy in malignant mesothelioma(×80000).

소한 각기 다른 두 구역에서 세포질 또는 세포막이 분명하게 염색될 때 양성으로 판정하였다.

3. 통계학적 분석

자료의 통계학적 분석은 chi-square test와 t-test를 이용하였다.

결 과

전자현미경을 이용한 흉막조직 병리학적 소견에서 확진된 악성중피종 7례(남 : 여=5 : 2) (Fig. 1)와 전

Table 1. Antibody panel for the differential diagnosis of pleural mesothelioma and metastatic adenocarcinoma.

Antibody	Dilution	Source*	Description
CK	1 : 50	Zymed	Monoclonal
EMA	1 : 50	Zymed	Monoclonal
Vimentin	1 : 1	BioGenex	Monoclonal
CEA	1 : 50	Zymed	Monoclonal
Leu-M1	1 : 50	Zymed	Monoclonal
S-100 protein	1 : 100	Zymed	Monoclonal
B72-3	1 : 50	Neomarker	Monoclonal

*Zymed, San Francisco, U.S.A. : Neomarker, Fremont, U.S.A. : BioGenex, Dublin, U.S.A.

Table 2. Clinicopathologic features of pleural mesothelioma and metastatic adenocarcinoma

	Mesothelioma*	Adenocarcinoma
Age (years)	61.9±8.9	60.4±9.5
Sex (M/F)	5/2	3/4
Smoking (PYS)	11.7±14.7	12.0±10.3
Histologic type		
epitheloid	4	
sarcomatoid	2	
biphasic	1	

*No known history of asbestos contact, Mean±SD

Table 3. Immunohistochemical fingings in malignant mesothelioma and metastatic adenocarcinoma

Monoclonal antibody	Mesothelioma	Adenocarcinoma
	N=7 (%)	N=7 (%)
CK	5 (71.4)	7 (100)
EMA	5 (71.4)	7 (100)
Vimentin	3 (42.9)	2 (28.5)
S-100	4 (57.1)	1 (14.3)
CEA	3 (42.9)	7 (100)
Leu-M1	1 (14.3)	5 (71.5)
B72-3	0 (0)	7 (100)

Note : Column entities denote number of immunoreactive cases.

이성선암 7례(남 : 여=3 : 4)를 대상으로 하였으며 평균연령은 각각 61.9±8.9와 60.4±9.5였고, 흡연력은 악성중피종 11.7±4.7(pys), 전이성선암 12.0±10.3(pys)으로 양군사이에 연령, 성비, 흡연력의 차이는 없었다. 악성중피종 7례는 상피형 4례, 육종형 2례, 중복형 1례이었고, 전이성선암의 원발부위는 7례 모두 폐이었다(Table 2).

각 종양의 검체를 대상으로 7종의 단클론항체를 이용하여 면역조직화학염색을 시행하여 얻은 성적은 다음과 같다(Table 3).

CK와 EMA는 전이성선암에서 모두 발현(100%)되었지만, 악성중피종 5례(71.4%)에서도 발현되었다. S-100단백은 악성중피종 4례(57.1%)와 선암의 1례(14.3%)에서 발현되었고, vimentin은 악성중피종의 3례(42.9%)와 선암의 2례(28.5%)에서 발현되었다.

B72-3은 전이성선암에서만 모두 발현되어 선암에 대한 민감도 및 특이도가 각각 100%였다(Fig 2).

Leu-M1은 전이성선암의 5례(71.4%)와 악성중피종의 1례(14.3%)에서 발현되었고 선암에 대한 민감도는 71.4%, 특이도는 85.7%이었다.

CEA는 전이성선암 7례 모두와 악성중피종 3례(42.9%)에서 발현되어 선암에 대한 민감도는 100%, 특이도는 57.1%였다(Fig 3).

이상 7가지 항체를 이용한 면역조직화학염색법중 두 종양을 감별하는데 유용한 단클론항체와 두가지 이

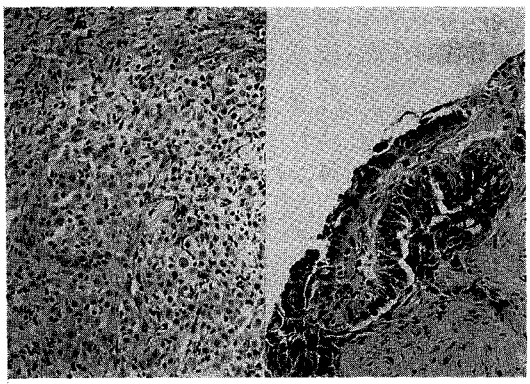

Fig. 2. Negative immunostaining for B72-3 in Mesothelioma (Left) and diffuse immunoreactivity in adenocarcinoma (Right) (×100).

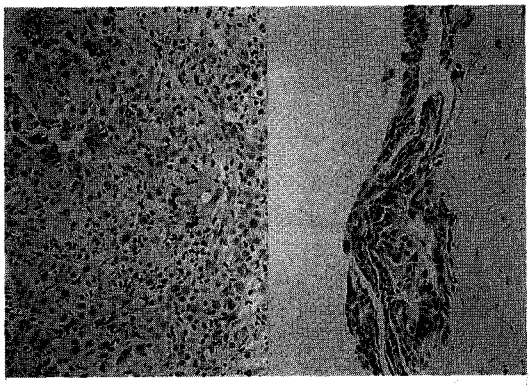

Fig. 3. Postive immunostaining for CEA in mesothelioma (Left) and adenocarcinoma (Right) (×100).

Table 4. Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies in predicting adenocarcinoma

Monoclonal antibody	Sensitivity(%)	Specificity (%)
B72-3	100	100
CEA	100	57.1
Leu-M1	71.4	85.7
CEA+B72-3	100	100
CEA+Leu-M1	71.4	14.3
Leu-M1+B72-3	71.4	100
CEA+B72-3+Leu-M1	71.4	100

상의 단클론항체를 조합하여 감수성과 특이도를 분석한 성적은 Table 4와 같다.

B72-3, CEA, Leu-M1은 전이성선암에서 의의있게($P<0.05$) 발현율이 높았으나 CK, EMA, vimentin, S-100 protein은 악성중피종과 전이성선암에서 발현율에 큰 차이는 없었다($P>0.05$).

CEA와 B72-3 및 Leu-M1의 세가지 단클론항체가 함께 발현된 경우는 전이성선암을 진단하는데 있어 민감도보다 특이도가 의의있게 높았다($P<0.05$).

전이성선암을 진단할 수 있는 민감도와 특이도는 B72-3를 단독으로 사용하였을 때와 CEA와 B72-3을 함께 사용한 경우에 각각 100%로 다른 항체보다 훨씬 좋은 결과를 얻었다.

고 찰

악성중피종은 흉막, 복막 혹은 심막의 중피에서 드물게 발생하는[1,2] 예후가 불량한 종양으로 대부분 흉막에 발생하는 것으로 알려져있고, 광학현미경소견으로는 흉막의 전이성선암과 감별하기가 매우 어렵다[14]. 임상적으로 치료와 예후가 두 종양간에 차이가 많으므로 감별하는 것이 중요하고, 보통 면역조직화학염색을 이용하거나 전자현미경 소견을 이용하여서 진단하려는 시도를 하고 있고 일부에서는 여러 진단방법을 복합하여서 감별진단의 특이성을 높이려는 시도를 하고있다.

악성중피종은 광학현미경하에서 양이 풍부한 호산성의 세포질을 함유한 세포들이 유두상돌기 또는 가소

포(pseudoacini)를 이루거나 고형의 세포군집(solid nest) 형태로 관찰된다[46]. PAS-diastase염색법을 이용한 중성점액의 검출이 전이성선암의 진단에, 그리고 Alcian blue 염색법으로 산성점액을 검출하는 것이 악성중피종의 진단에 도움을 주지만, 점액을 생성하지 않는 종양인 경우나 염색 전처치때에 점액이 손실되는 경우가 있으므로 감별 진단력의 민감도가 떨어진다고 알려져 있다[15-17]. 또한 악성중피종에서는 전자현미경상 전이성선암에 비해 가늘고 긴 미소융모(microvilli)가 특징적으로 관찰되지만 대개 특이성이 비교적 낮다[18-20]. 따라서 최근 두 종양의 감별진단에 있어 여러 단클론항체를 이용한 면역조직화학염색법의 유용성이 보고되고 있기 때문에[17,21-27], 저자들은 7개의 단클론항체를 이용하여서 악성중피종과 전이성선암을 감별하는데 각각의 민감도와 특이성을 비교하여 임상에 이용하고자 하였다.

CK는 모든 상피세포에 존재하는 비수용성의 세포내 섬유성 단백으로 악성중피종과 전이성선암의 감별진단에 유용하다고 알려져왔다[31-34]. 그러나, 저자들이 관찰한 바로는 CK는 전이성선암에서는 7례 모두(100%)에서 양성반응을
보였지만 악성중피종 5례(71.4%)에서도 양성반응을 보여 전이성선암에 대한 특이도는 28.6%로 이들 두 질환의 감별진단에 유용한 방법이 아님을 시사하였다.

EMA은 인간 유즙구막(human milk fat globule)에 존재하는 당단백으로 정상 상피뿐 아니라 종양상피, 악성중피종, 수막종에서도 발현되며, 악성중피종에서 주로 발현된다고 알려졌지만, 전이성선암과의 감별진단에 유용하지는 않다고 알려져있다[28-30]. 역시, 저자들의 연구성적에서도 전이성선암 7례와 악성중피종 5례에서 발현되어 특이도가 떨어지는 것으로 나타났다.

vimentin은 세포질내 중간형 필라멘트로 주로 간엽세포에서 발견되며, 중피세포의 주된 구성물질이다[24,31]. vimentin 역시 악성중피종 3례(42.9%)와 전이성선암 2례(28.5%)에서 발현되어 두 질환을 구별하는데는 유용하지 않을 것으로 생각된다.

S-100은 주로 악성 중피종에서 발현된다고 알려져 있고 분자량이 21,000*Dt*의 산성, 이량체 칼슘 결합단백으로 신경절세포, 흑색세포, 연골세포, 지방세포, 근상피세포에서 발현된다[35-36]. 본 연구에서는 악성중피종의 4례(57.1%), 전이성선암의 1례(14.3%)에서 발현되었다. 결국 악성중피종과 전이성선암에서 CK, EMA, vimentin 및 S-100 단백은 발현율에 있어서 유의한 차이는 없었다.

CEA는 분자량 200,000 *Dt*의 당단백으로 태생기 상피세포에서 정상적으로 발견되며, 위장관, 폐에발생하는 선암과 갑상선 수질암에서 발현되어 악성중피종과의 감별진단에 유용한 것으로 알려져있다[32,34,37-39]. 본 연구에서는 전이성선암의 7례(100%) 모두에서, 악성중피종의 3례(42.9%)에서 발현되어 전이성선암에 대한 민감도는 100%, 특이도는 57.1%이었다. 따라서 CEA가 발현되지 않을 경우는 악성중피종을 시사하지만 CEA가 발현된 경우, 이것만으로 전이성선암과 중피종을 감별하기는 어려울듯하다.

Leu-M1은 골수단핵구의 세포막단백과 결합된 탄수화물성분인 합텐 X(Hapten X)를 인식하는 항체로 림프종과 선암에서 발현된다[27,39-42]. Sheibani 등[40]은 Leu-M1이 18례의 악성중피종 전례에서는 발현되지 않았지만, 전이성선암 179례 중 105례에서 발현되는 것을 관찰하여 Leu-M1의 발현유무가 전이성선암으로부터 악성중피종을 감별하는데 매우 유용할 것으로 보고하였다. 저자들의 성적에서는 전이성선암의 5례(71.4%)와, 동시에 상피형 악성중피종의 1례(14.3%)에서도 발현되어 선암에 대한 민감도는 71.4%, 특이도는 85.7%이었다. CEA와 Leu-M1이 함께 발현된 경우는 선암의 5례(71.4%), 악성중피종 1례(14.7%)로 나타났다.

세포표면 당단백질인 B72-3은 TAG-72(tumor associated glycoprotein)로 알려진 고분자량의 점액과 반응하는 세포표면 당단백으로, 일반적으로 악성중피종에서는 발현되지 않는 것으로 알려졌다[43-45]. Szpak등[43]은 폐에서 발생한 선암 22례중 19례(86%)에서 B72-3의 발현을 관찰하였고, 20례의 악성

중피종 모두에서는 발현되지 않음을 보고하였다. 저자들도 전이성선암 7례(100%) 모두에서 B72-3의 발현을 보았고, 악성중피종은 7례 모두에서 발현되지 않아(0%) 비슷한 결과를 얻었다. 전이성 선암에 대한 B72-3의 민감도와 특이도는 각각 100%였다. CEA와 B72-3이 함께 발현된 경우는 전이성선암에서만 7례(100%)로 민감도, 특이도 모두 100%의 결과를 얻을 수 있었다.

결론적으로 여러가지 단클론항체 가운데 B72-3 면역조직화학염색이 악성중피종과 전이성선암의 감별진단에 가장 유용한 방법으로 생각되며, CEA와 B72-3을 함께 이용할 경우에는 먼저 병리조직검사실에서 흔히 사용되고 있는 CEA를 검사하여 CEA가 음성인 경우는 악성중피종을 생각하고, CEA가 양성인 경우는 추가로 B72-3 면역조직화학염색을 실시한다면 두 질환을 감별진단하는데 매우 유용할 것으로 생각된다.

요 약

연구배경 :
전자현미경적 관찰에 의해 진단된 흉막의 악성중피종과 전이성선암 환자를 대상으로 하여 7종의 단일클론항체를 이용한 면역조직화학염색을 시행하고 이들의 발현양상을 비교하여 두 질환을 감별할 수 있는 가장 효과적인 염색방법을 알아보고자 하였다.

방 법 :
면역조직화학염색법은 Fisher사(Fisher scientific)의 1-hour immunohistochemistry방법[46]을 이용하였다. 종양조직은 포르말린으로 고정된 파라핀 조직을 이용하여, 3μm 두께로 잘라서, 85℃에서 가열시킨 후 파라핀을 제거하고, 희석액과 단클론항체를 45℃에서 15분간 반응시켰다.

각 단계마다 automation buffer로 실온에서 세척하였고,avidin-biotin-peroxidase system1[14]을 이용한 immunoperoxidase method로 염색하였다. 조직절편은 45℃에서 10분간 색소원반응을 시행하였고, 대조염색은 hematoxylin으로 실시하였다. 조직 절편은 최소한 각기 다른 두 구역에서 세포질 또는 세포막이 분명하게 염색될 때 양성으로 판정하였다.

결 과 :
7종의 단일클론항체중 CK, EMA, vimentin, S-100 단백과 Leu-M1은 악성중피종과 전이성선암에서 발현율의 차이는 없었으나, B72-3은 전이성선암에서만 발현되었고, CEA는 전이성선암 전례와 악성중피종 42.9%에서 발현되어서 민감도는 높았으나 특이도는 낮았다.

결 론 :
B72-3을 이용한 면역조직화학염색은 악성중피종과 전이성선암의 감별진단에 가장 유용한 방법으로 시사되었으며, 기존에 사용되고 있는 CEA와 B72-3을 함께 이용한다면 악성중피종과 전이성선암에 대한 감별진단력을 높일 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Enzinger FM, Weiss SW. Soft Tissue Tumors. 3rd edn, St. Louis : Mosby. ; 1995. p. 787-819.
2. Battifora H, McCaughery WTE. Tumours and pseudotumours ofthe serosal membranes : Atlas of Tumour Pathol, 3rd series, fascicle 15. Washington, DC : Armed Forces Institute of Pathol 1995. p.15-88
3. Kannerstein M, Churg J. Peritoneal mesothelioma. Hum Pathol 1977:8:83-94.
4. Roggli VL. Pericardial mesothelioma after exposure to asbestos. N Engl J Med 1981:304:1045.
5. Jones MA, Young RH, Scully RE. Malingnant mesothelioma of the tunica vaginalis : A clinicopathologic analysis of 11 cases with review of the literature. Am J Surg Pathol 1995:19:815-25.
6. Wagner JC, Sleggs CA, Marchand P. Diffuse pleural mesothelioma and asbestos exposure in

the North Western Cape Province. Br J Int Med 1960:17:260-71.
7. Selikoff IJ, Churg J, Hammond EC. Relation between asbestos exposure and mesothelioma. N Engl J Med 1965:272:560-5.
8. Acheson ED, Gardner MJ, Pippard EC, Grime LP. Mortality of two groups of women who manufactured gas masks from chrysotile and crocidolite asbestos : a 40-year follow-up. Br J Ind Med 1982:39:344-8.
9. Elmes PC, Wade OL. Relationship between exposure to asbestos and pleural maligancy in Belfast. Ann NY Acad Sci 1965:132:549-57.
10. Executive Office of Population Censuses and Surveys/Health and Safety. Occupational Health Decennial Supplement edition. London HM Stationary Office;1995.
11. Giobs AR, Jones JSP, Pooley FD, Griffiths DM. Non occupational mesotheliomas. In : Bignon J, Peto J, Saracci R. eds. Nonoccupational exposure to mineral fibres. IARC Sci Bull 1989:90:219-28.
12. Dalton WT, Zolliker AS, McCaughey WTE, Jacques J, Kannestein M. Localized primary tumors of the pleura. Cancer 1979:44:1465.
13. Faurschou P. Diagnostic thoracoscopy in pleuropulmonary Infiltrates without pleural effusion. Endoscopy 1985:17:21-5.
14. Attanoos RL, Gibbs AR. Pathology of malignant mesothelioma. Histopathology. 1997:30:403-18.
15. Kannerstein M, Churg J, Magner D. Histochemistry in the diagnosis of malignant mesothelioma. Ann Clin Lab Sci 1973:3:207-11.
16. Adams VI, Unni KK. Diffuse malignant mesothelioma of pleura : diagnostic criteria based on an autopsy study. Am J Clin Pathol 1984:82:15-23.
17. Cibas ES, Corson JM, Pinkus GS. The distinction of adenocarcinomas from malignant mesothelioma in cell blocks of effusions : the role of routine mucin histochemistry. Hum Pathol 1987:18:67-74.
18. Warhol MJ, Hickey WF, Corson JM. Malignant mesothelioma : ultrastructural distinction from adenocarcinoma. Am J Surg Pathol 1982:6:307-14.
19. Warhol MJ, Corson JM. An ultrastructural comparison of mesotheliomas with adenocarcinoma of the lung and breast. Hum Pathol 1985:16:50-5.
20. Holden J, Churg A. Immunohistochemical staining for keratin and carcinoembryonic antigen in the diagnosis of malignant mesothelioma. Am J Surg Pathol 1984:8:277-9.
21. Gatter KC, Dunnill MS, Pulford KA, Heryet A, Mason DY. Human lung tumours : A correlation of antigenic profile with histological type. Histopathology 1985:9:805-23.
22. Battifora H, Kopinski MI. Distinction of mesothelioma from adenocarcinoma. An immunohistochemical approach. Cancer 1985:55:1685-97.
23. Churg A. Immunohistochemical staining for vimentin and keratin in malignant mesothelioma. Am J Surg Pathol 1985:9:360-5.
24. Lee I, Radosevich JA, Chejfec G, Ma YX, Warren WH, Rosen ST et al. Malignant mesotheliomas. Improved differential diagnosis from lung adenocarcinomas using monoclonal antibodies 44-3A6 and 624A12. Am J Pathol 1986:123:497-507.
25. Tron V, Wright JL, Churg A. Carcinoembryonic antigen and milk-fat globule protein staining of malignant mesothelioma and adenocarcinoma of the lung. Arch Pathol Lab Med 1987:111:29 1-3.
26. Sewell HF, Jaffray B, Thompson WD. Reaction

of monoclonal anti Leu M1-a myelomonocytic marker(CD15)-with normal and neoplastic epithelia. J Pathol 1987:151:279-84.

27. Ordonez NG. The immunohistochemical diagnosis of mesothelioma Differentiation of mesothelioma and lung adenocarcinoma. Am J Surg Pathol 1989:13:276-91.
28. van der Kwast TH, Versnel MA, Delahaye M, de Jong A, Zondervan PE, Hoogsteden H. Expression of epithelial membrane antigen on malignant mesothelioma cells : An immunocytochemical and immunoelectron microscopic study. Acta Cytol 1988:32:169-74.
29. Walts AE, Said JW, Shintaku IP. Epithelial membrane antigen in the cytodiagnosis of effusions and aspirates : immunocytochemical and ultrastructural localization in benign and malignant cells. Diagn Cytopathol 1987:3:41-9.
30. Mullink H, Henzen-Logmans SC, Alons-van Kordelaar JJ, Tadema TM, Meijer CJ. Simultaneous immunoenzyme staining of vimentin and cytokeratins with monoclonal antibodies as an aid in the differential diagnosis of malignant mesothelioma from pulmonary adenocarcinoma. Virchows Arch [B cell Pathol Incl Mol Path] 1986: 52:55-65.
31. Said JW, Nash G, Tepper G, Banks Schlegel S. Keratin proteins and carcinoembryonic antigen in lung carcinoma : An immunoperoxidase study of fifty-four cases with ultrastructural correlations. Hum Pathol 1983:14:70-6.
32. Said JW, Nash G, Banks-Schlegel S, Sassoon AF, Murakami S, Shintaku IP. Keratin in human lung tumours. Patterns of localization of different molecular-weight keratin proteins. Am J Pathol 1983:113:27-32.
33. Corson JM, Pinkus GS. Mesothelioma: profile of keratin proteins and carcinoembryonic antigen : an immunoperoxidase study of 20 cases with comparison with pulmonary adeno-carcinomas. Am J Pathol 1982:108:80-7.
34. Drier JK, Swanson PE, Cherwitz DL, Wick MR. S100 protein immunoreactivity in poorly differentiated carcinomas. Immunohistochemical comparison with malignant melanoma. Arch Pathol Lab Med 1987:111:447-52.
35. Kawai T, Torikata C, Suzuki M. Immunohistochemical study of pulmonary adenocarcinoma. Am J Clin Pathol 1988:89:455-62.
36. Marshall RJ, Herbert A, Braye SG, Jones DB. Use of antibodies to carcinoembryonic antigen and human milk fat globule to distinguish carcinoma, mesothelioma, and reactive mesothelium. J Clin Pathol 1984:37:1215-21.
37. Whitaker D, Sterrett GF, Shilkin KB. Detection of tissue CEA-like substances as an aid in the differential diagnosis of malignant mesothelioma. Pathology 1982:14:255-8.
38. Robb JA : Mesothelioma versus adenocarcinoma. false-positive CEA and Leu-M1 staining due to hyaluronic acid(letter). Hum Pathol 1989:20: 400.
39. Warnock ML, Stoloff A, Thor A. Differentiation of adenocarcinoma of the lung from mesothelioma : Periodic acid-Shiff, monoclonal antibodies B72.3, and Leu M1. Am J Pathol 1988:133:30-8.
40. Sheibani K, Battifora H, Burke JS, Rappaport H. Leu-M1 antigen in human neoplasms. An immunohistologic study of 400 cases. Am J Surg Pathol 1986:10:227-36.
41. Pinkus GS, Said JW. Leu-M1 immunoreactivity in nonhematopoietic neoplasms and myeloproliferative disorders. An immunoperoxidase study of

paraffin sections. Am J Clin Pathol 1986;85:278-82.

42. Johnson VG, Schlom J, Paterson AJ, Bennett J, Magnani JL, Colcher D. Analysis of a human tumor-associated glycoprotein (TAG-72) identified by monoclonal antibody B72.3 Cancer Res 1986:46:850-7.
43. Szpak CA, Johnston WW, Roggli V, Kolbeck J, Lottich SC, Vollmer R et al. The diagnostic distinction between malignant mesothelioma of the pleura and adenocarcinoma of the lung as defined by a monoclonal antibody(B72.3). Am J Pathol 1986:122:252-60.
44. Johnston WW, Szpak CA, Thor A, Schlom J. Phenotypic characterization of lung cancers in fine needle aspiration biopsies using monoclonal antibody B72.3. Cancer Res 1986:46:6462-70.
45. Reed JA, Manahan LJ, Park CS, Brigati DJ. Complete one-hour immunocytochemistry based on capillary action. Biotechniques 1992:13:434-43.
46. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex(ABC) in immunoperoxidase techniques : A comparison between ABC and unlabeled antibody(PAP) procedures. J Histochem Cytochem 1981:29:577-80.