

갑상샘 유두암종의 세포진단에서 형태학적 계측의 분석

가톨릭 의과대학 대전성모병원 병리과, 영상의학과,¹ 내과,² 일반외과,³ 진단검사의학과,⁴
가톨릭 의과대학 여의도성모병원 병리과⁵

김 종 옥 · 양 보 성¹ · 김 혜 수² · 이 종 민² · 이 동 호³ · 신 소 영⁴ · 강 창 석⁵ · 이 혜 경

= Abstract =

Morphometric Analysis for Cytological Diagnosis of Thyroid Papillary Carcinoma

Jong Ok Kim, M.D., Bo Seong Yang, M.D.,¹ Hye Soo Kim, M.D.,² Jong Min Lee, M.D.,²
Dong Ho Lee, M.D.,³ So Young Shin, M.D.,⁴ Chang Suk Kang, M.D.,⁵ and Hye Kyung Lee, M.D.

Department of Pathology, Radiology,¹ Internal Medicine,² and General Surgery,³ Clinical Pathology,⁴
Catholic University Medical College, St. Mary's hospital, Daejeon Department of Pathology,⁵
Catholic University Medical College, St. Mary's hospital, Seoul, Korea

The diagnosis of papillary thyroid cancer is generally based on the findings of intranuclear cytoplasmic inclusions and nuclear grooves. Although anisokaryosis and poikilokaryosis, in papillary thyroid cancer, are not distinct when compared to other cancers, cytological examination can provide useful preoperative information. Our study evaluated the diagnostic role of computer-assisted image analysis for the pre-surgical assessment of papillary thyroid carcinoma. Thyroid aspirates from twenty female patients who were histologically confirmed to have both papillary carcinoma and benign nodules were studied. Different populations of 50 benign cells and 50 malignant cells were analyzed. Five morphometric parameters were selected for analysis: nuclear area, perimeter, maximum length, maximum width and intensity standard variation. The values obtained for papillary carcinomas were higher than the surrounding benign nodules as follows: nuclear area 63.5 vs. 36.1 ($p=0.000$), nuclear perimeter were 29.4 vs. 22.0 ($p=0.000$), maximum length 9.6 vs. 7.1 ($p=0.000$), maximum width 8.2 vs. 6.3 ($p=0.000$), the ratio between maximal length and maximal width 1.16 vs. 1.13 ($p=0.000$), the standard variation of intensity 14.9 vs. 15.9 ($p=0.101$) respectively. Therefore, morphometric information can be helpful for the differential cytological diagnosis of papillary thyroid carcinoma.

Key words: Thyroid papillary carcinoma, Aspiration cytology, Image analyzer, Morphometry.

논문접수 : 2006년 1월 16일

게재승인 : 2006년 8월 18일

책임저자 : 이 혜 경

주 소 : (301-723) 대전광역시 중구 대흥2동 520-2, 가톨릭 의과대학 대전성모병원 병리과

전 화 : 042-220-9612

팩 스 : 042-252-9722

E-mail address: apw01@catholic.ac.kr

본 연구는 카톨릭 의과대학 연구비 보조로 이루어졌음.

서 론

갑상샘 유두암종의 진단시 핵의 세포소견으로는 핵 내 세포질 봉입체, 젓빛 형태의 핵, 핵내 고랑들이 중요하게 알려져 있다.¹⁻³ 그러나 유두모양 세포 군집, 핵 크기의 증대, 핵내 염색질의 비균질성 같은 다른 세포 소견도 유두암종 진단에 간접적으로 도움을 준다고 알려져 있다.⁴⁻¹⁰ 통상적으로 암세포에 대한 세포소견을 기술할 때 주위 정상세포를 기준으로 정하고 그에 대한 비교 소견을 기술하지만 수치화되지 않은 정보의 한계성으로 그의 객관성이 부족하다고 할 수 있다. 이에 몇몇 저자들이 세포들의 의미있는 형태학적 차이를 수치화하여 진단의 객관성에 도움을 줄 수 있도록 시도한 바 있었으나 국내에서 갑상샘 병변에서 형태학적 계측에 의한 세포 차이를 기술한 예는 아직 없다.¹¹⁻¹⁴ 본 저자들은 갑상샘 세침흡인 세포검사 후 유두암종을 진단받고 갑상샘 적출술이 행해진 환자를 대상으로 유두암종세포와 양성병변 세포들 간의 형태학적 차이를 계측하고 그의 진단적 의의를 알아보았다.

재료 및 방법

카톨릭 의과대학 부속 대전성모병원에서 초음파 검사 하에 악성결절과 주위 양성결절이 서로 구분되어 세침흡인 세포검사된 후 각각 유두암종과 양성결절을 진단받고 적출술 후 조직학적으로 확인된 여성 환자 20예를 대상으로 하였다. 세침흡인은 25게이지 주사바늘을 사용하였으며 흡인 후 세포도말검체는 95% 알코올에 고정한 후 Papanicolaou 염색을 하였다. 형태학적 계측을 위하여 두 명의 병리의사가 BX-50 올림푸스 현미경으로 서로 구별되어진 암종 세포 도말표본과 양성결절 도말표본을 400배율로 각각 촬영한 후 i-solution 영상분석기(Daejon, Korea)의 spline 형태를 통해 각 환자의 암종 세포 50개, 양성결절세포 50개의 핵을 커저를 사용하여 수동으로 그렸고(Fig. 1), 그 데이터를 영상분석기의 프로그램에 적용하여 핵의 면적, 핵막의 길이, 핵의 최장 길이와 최대 폭, 최장 길이와 최대 폭의 비율, 그리고 염색 강도에 대한 표준편차 등을 구하였다. 암종 세포는 핵 내 고랑이나 핵 내 세포질 봉입체 또는 젓빛 형태의 핵을 보이거나 유두상 세포 군집 등이 뚜렷하며 핵 내 염색질의 구분이

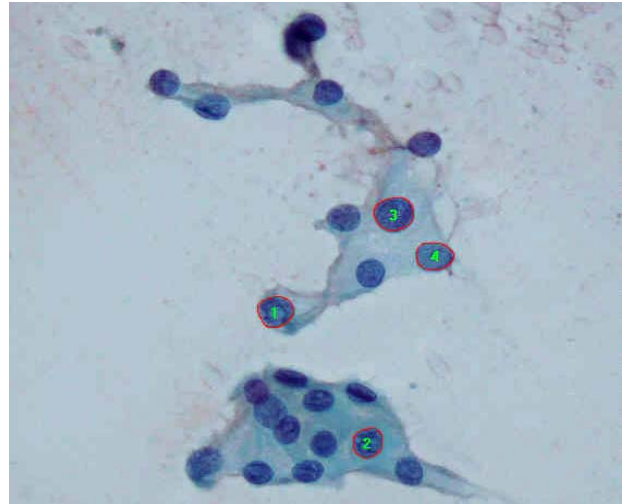


Fig. 1. Image capture by spline shape measurement of i-solution. (Papanicolaou)

가능한 세포로 정하였으며 염색질의 미세 구조가 관찰되지 않거나 농축된 핵들은 제외하였다.

결 과

20예의 갑상샘 유두암종의 장경은 평균 11.5 mm (범위 5~45 mm) 였고 12예가 10 mm 이상이었다. 양성결절의 조직학적 소견은 결절 갑상샘종이 16예, 소포샘종이 2예, 하시모토 갑상샘염이 1예, 육아종성 갑상샘염이 1예였다. 종양 세포와 주위 양성결절세포의 평균 핵 면적은 각각 $63.5 \mu\text{m}^2$ 과 $36.1 \mu\text{m}^2$, 핵둘레 길이는 $29.4 \mu\text{m}$ 와 $22.0 \mu\text{m}$, 최대 길이는 $9.6 \mu\text{m}$ 와 $7.1 \mu\text{m}$, 최대 폭은 $8.2 \mu\text{m}$ 와 $6.3 \mu\text{m}$, 최대 길이와 최대 폭의 비율은 1.16와 1.13, 그리고 핵 내 염색질의 명암도 표준 편차는 14.9와 15.9 였다(Table 1). 각 수치를 T-검정했을 때 핵면적은 $p=0.000$, 핵둘레는 $p=0.000$, 최대길이는 $p=0.000$, 최대폭은 $p=0.000$, 최대길이와 최대폭의 비는 $p=0.001$ 로 악성종양과 양성결절 간에 통계학적으로 유의한 차이가 있었다. 그러나 염색질의 명암도 표준 편차는 $p=0.101$ 으로 두 군 간에 유의한 차이가 없었다.

Table 1. Statistical parameters of thyrocyte nuclei of papillary carcinomas and benign nodules

		Mean	SD
Area (μm^2) p = 0.000	Cancer	63.47	11.45
	Benign	36.07	5.36
Perimeter (μm) p = 0.000	Cancer	29.40	2.70
	Benign	22.04	1.66
Maximum length (μm) p = 0.000	Cancer	9.57	0.89
	Benign	7.11	0.54
Maximum width (μm) p = 0.000	Cancer	8.24	0.73
	Benign	6.31	0.46
Ratio (L/W) p = 0.001	Cancer	1.17	0.03
	Benign	1.13	0.03
Intensity SD p = 0.001	Cancer	14.89	1.17
	Benign	15.86	2.28

p = p-value

SD : Standard deviation

Ratio (L/W) : Ratio between maximum length and maximum width

The number of each group is twenty.

고 찰

1980년 갑상샘 암종 세포의 형태학적 계측이 진단에 도움이 된다는 Boon 등¹¹에 의한 언급 후 소포성 양성종양과 소포성 악성종양의 감별진단을 위한 방법으로 영상분석기를 이용한 형태학적 계측의 유용성이 지속적인 논의의 대상이 되어 왔다.⁹⁻¹⁴ 그러나 핵내 세포질 봉입체, 핵고랑, 젓빛 형태의 핵과 같이 진단의 필요조건이 정해져 있는 유두암종에서는 종양세포들의 형태학적 계측에 의한 다른 세포 소견의 필요성이 상대적으로 적었다. 그러나 갑상샘 유두암종의 세포도말표본에서 위에 언급한 핵의 필요조건들이 도말된 모든 종양세포에서 관찰되지 않는다는 점을 감안할 때 악성세포들에서 나타나는 핵크기의 변화나 염색질의 차이와 같은 기본적인 세포변화가 진단에 도움을 줄 수 있다고 생각하였다. 이에 저자들은 갑상샘 유두암종 종양세포들의 변화를 형태학적 계측을 통해 정리해보고 주위 양성 병변과의 차이를 비교해 보았을 때 환자 간의 결과값이 비교적 일정하다고 생각할 수 있는 낮은 분산값과 함께, 유두암종 세포의 핵면적, 핵막 둘레길이, 핵의 최대거리와 최대폭의 수치를 수학적으로 표시할 수 있었으며 주위 양성 병변과 비교 시 통계학적으로 의미있게 커진 소견을 볼 수 있었

다. 저자들이 계측한 유두암종의 핵면적은 평균 63.47 μm^2 로 이는 유두암종을 대상으로 Wright 등⁵이 계측한 57.1 μm^2 과 Nagashima 등⁸이 계측한 46.36 μm^2 보다 컸으며 핵막 길이는 29.40 μm 로 Wright 등⁵이 계측한 27.8 μm 과 Nagashima 등⁸이 계측한 23.94 μm 보다 컸다. 위 결과는 저자들의 방법과 같은 Wright 등⁵의 결과와 가까웠으며 컴퓨터 이미지의 픽셀의 수를 측정하는 Nagashima 등⁸의 결과와는 차이가 있었다. 이와 같이 세포의 형태학적 계측치에 영향을 주는 여러 인자들이 가능한데 염색 방법이나 조금씩 상이한 컴퓨터 분석프로그램들이 그의 영향인자가 될 수 있다고 생각하였다. Wright 등⁵의 연구 결과에서 Papanicolaou 염색 후 측정치보다 초생체 염색인 Wright-Giemsa 염색을 했을 때 측정치가 높은 것은 세포 고정과정에서 일어나는 탈수 현상과 관련 있을 것으로 생각되었으며, 본 연구에서는 핵의 가장 긴 방향을 장축으로 정하고 직각을 이루는 축을 단축으로 정하였으나 Nagashima 등⁸은 핵의 가장 긴 장축의 길이와 가장 짧은 단축의 비율을 비교하기도 하였다.

어떤 세포의 고유 측정값에 대한 이해를 높이는 것은 지금까지 대부분의 진단들이 정상군, 양성 종양군, 악성 종양군 과 같이 상대성에 기초한 접근방식이란 것을 생각할 때 의미가 있다고 생각되며 굳이 정확한 형태학적 계측이 아니더라도 직경 7.5~8 μm 의 적혈구, 현미경 내의 지시자의 길이, 40배 배율에서의 현미경 직경의 길이와 같은 고유 측정값을 가지는 여러 소견에 비교 분석하는 습관을 갖는 것이 중요하다고 생각하였다. 인종, 성별, 연령, 진단간의 분석이 이루어져 좀 더 많은 결과가 축적되면 각 질병에 대한 병인과 다양성을 이해할 때 도움이 되며 추후 세포병리판독의 자동화 시 기준치를 정하는데 도움이 될 것으로 생각하였다.

그러나 세포들의 형태학적 계측이 진단에 도움을 주지만 본 연구에서 고가의 영상 분석기가 사용되었고 분석을 위해 핵막을 그릴 때 많은 시간이 소요되어 동일 방법을 실제 업무에 얼마나 이용할 수 있을지는 미지수였다. 저자들은 Wright 등⁵이 시도한 것과 같이 고배율로 사진을 찍고 i-solution 영상프로그램의 spline 방법으로 커저를 사용하여 세포를 낚낚이 그리는 방법을 택하였는데 이 방법은 Frasoldati 등¹⁵이 사용한 Feulgen 염색 후 성숙 림프구의 핵을 기준으로 다른 세포들을 분리하여 자동으로 그 세포들에 대하여 통계학적 분석을 하는 방법보다 시간이 많이

들지만 더 정확한 방법이라고 판단하여 택하였다. 그러나 향후 시간 절감과 정확성을 같이 갖춘 영상분석 방법에 대해 지속적으로 연구가 있어야 할 것으로 생각되었다.

저자들의 연구가 암종 세포 핵의 소견을 정량적으로 분석했다는 점에 있어서 의미가 있으나 대조군으로 사용한 양성 결절세포들이 결절갑상샘종, 소포샘종, 하시모토 갑상샘염과 같이 정상세포가 아니고 아직 충분히 많은 증례 수가 아니므로 그 해석에 주의가 요구되고 본 연구의 갑상샘 유두암종의 형태학적 계측에 의한 정보가 세포병리 판독시 진단적 민감도와 특이도에 미치는 영향을 규명하기 위해서는 추후 핵의 크기가 의미있게 크면서 핵 내 세포질봉입체나 핵고랑 등이 관찰되지 않는 예들의 임상적 의의를 추적해 보는 것이 필요하다고 생각하였다.

결 론

수술 전 세침흡인 세포검사로 갑상샘 유두암종과 양성 결절을 진단받고 조직학적으로 확인된 여자 환자 20예를 대상으로 종양세포와 양성 결절 세포들의 세포도말 표본에서 영상 분석기를 이용하여 핵의 면적, 핵의 둘레, 핵의 최대길이, 핵의 최대폭, 최대길이와 최대폭의 비율, 명암도의 표준편차를 계측하였다. 종양세포는 주위 양성 결절 세포에 비하여 핵의 면적, 둘레, 최대 길이, 최대폭, 최대길이와 최대폭의 비율이 통계학적으로 유의하게 큰 차이를 보였다.

감사의 말씀

본 논문의 컴퓨터 작업에 도움을 준 대전 혜천대학교 임상병리과 임효진 학생에게 깊은 감사의 말씀을 전합니다.

참 고 문 헌

1. Akslen LA. Prognostic importance of histologic grading in papillary thyroid carcinoma. *Cancer* 1993;73:2680-5.
2. Gray A, Doniach L. Morphology of the nuclei in papillary carcinoma of the thyroid. *Br J Cancer* 1969;23:49-51.
3. Rupp M, Ehya H. Nuclear grooves in the aspiration cytology of papillary carcinoma of the thyroid. *Acta Cytol* 1989;33:21-6.
4. Luck JB, Mumaw VR, Frable WJ. Fine needle aspiration biopsy of the thyroid: Differential diagnosis by Videoplan image analysis. *Acta Cytol* 1982;26:793-6.
5. Wright RG, Castles H, Mortimer RH. Morphometric analysis of thyroid cell aspirates. *J Clin Pathol* 1987;40:443-5.
6. Kashyap V, Kaushik N, Bhambhani S, Das DK, Luthra UK. Supportive role of image analysis and DNA ploidy pattern. *Diagnostic Cytopathology* 1992;8:228-30.
7. Salmon I, Gasperin P, Parteels JL, Heimann R, Kiss R. Relationship between histopathologic typing and morphonuclear assessment of 238 thyroid lesions. *Am J Clin Pathol* 1992;97:776-86.
8. Nagashima T, Suzuki M, Nakajima N. Cytologic morphometric approach for the prediction of lymph node involvement in papillary thyroid cancer. *Analyt Quant Cytol Histol* 1997;19:49-54.
9. Kirillov VA, Yuschenko YP, Papevka AA, Demidchik EP. Thyroid carcinoma diagnosis based on a set of karyometric parameters of follicular cells. *Cancer* 2001;92:1818-27.
10. Karslioglu Y, Celasun B, Gunhan O. Contribution of morphometry in the differential diagnosis of fine-needle thyroid aspirates. *Cytometry B Clin Cytom* 2005; 65:22-8.
11. Boon ME, Lowhagen T, Willems JS. Planimetric studies on fine needle aspirates from follicular adenoma and follicular carcinoma of the thyroid. *Acta Cytol* 1980;27:145-8.
12. Fadda G, Rabitti C, Minimo C, et al. Morphologic and planimetric diagnosis of follicular thyroid lesions on fine needle aspiration cytology. *Analyt Quant Cytol Histol* 1995;17:247-56.
13. Deshpande V, Kapila K, Sai KS, Verma K. Follicular neoplasia of the thyroid. Decision tree approach using morphologic and morphometric parameters. *Acta Cytol* 1997;41: 369-76.
14. Rajesh L, Saha M, Radhika S, Das Radotra B, Rajwanshi A. Morphometric image analysis of follicular lesions of the thyroid. *Anal Quant Cytol Histol* 2004; 26:117-20.
15. Frasoldati A, Flora M, Pesenti M, Caroggio A, Valcavi R. Computer-assisted cell morphology and ploidy analysis in the assessment of thyroid follicular neoplasm. *Thyroid* 2001;11:941-6.