

타액선 선양낭성암종과 다형선종에서 종양 표지자 발현의 의의

조선대학교 의과대학 이비인후과학교실,¹ 병리학교실²

최성준^{1*} · 조성일¹ · 도남용¹ · 이준한¹ · 최지윤¹ · 임성철²

Significance of the Expression of Tumor Markers in Adenoid Cystic Carcinoma and Pleomorphic Adenoma of the Salivary Gland

Seong Jun Choi, MD¹, Sung Il Cho, MD¹, Nam Yong Do, MD¹,
Jun Han Lee, MD¹, Ji Yoon Choi, MD¹ and Sung Chul Lim, MD²

¹Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery; ²Pathology, Chosun University College of Medicine, Gwangju, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : Salivary gland tumors are characterized by extreme histological diversity. Even within a single tumor, various histological patterns are observed. The same histological patterns are shared among various tumor types, regardless of the biological behavior, making diagnosis difficult. Although a great number of immunohistochemical studies of major salivary gland tumors have been published, their clinical and diagnostic implications are not fully apparent. We have performed basic immunohistochemical stains of pleomorphic adenoma (PA) and adenoid cystic carcinoma (ACC) to determine the diagnostic value of c-kit, Ki-67, glial fibrillary acidic protein (GFAP) and p53. **Materials and Method** : Paraffin-embedded tissue specimens from 48 cases, who were diagnosed as PA (n=31) and ACC (n=17) from 1993 to 2002, were immunohistochemically stained for c-kit, Ki-67, GFAP and p53. **Results** : In the immunohistochemical stains of c-kit, Ki-67 and p53, there were no difference between PA and ACC. However, in the immunohistochemical stain of GFAP, there were difference in PA and ACC. GFAP was expressed in 74% of the PA and was not expressed in all cases of ACC. **Conclusion** : These data suggest that GFAP immunoreactivity could be helped in the occasional differential diagnostic dilemma of pleomorphic adenoma versus adenoid cystic carcinoma in salivary gland. (*Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg* 2008;51:336-42)

KEY WORDS : Glial fibrillary acidic protein · Pleomorphic adenoma · Adenoid cystic carcinoma.

서 론

타액선 종양은 두경부 종양의 2~3% 정도를 차지하며, 다양한 조직학적 특징을 가지고 있고, 한 종양에서조차 다양한 조직학적 특징을 관찰할 수 있다. 생물학적 특징과 상관없이 다양한 종류의 타액선 종양에서 같은 조직학적 특징을 보이는 경우도 흔하다. 이러한 특징이 타액선 종양의 진단을 어렵게 하는 점이고 관심을 끌고 있는 분야이다.

타액선 종양의 60~70% 정도는 양성 종양이며, 많은 부분이 이하선에서 발생한다고 알려져 있다.¹⁾ 양성 종양인

다형선종이 모든 타액선 종양 중 가장 흔하고, 선양낭성암종은 점액표피암종에 이어 두 번째로 흔한 악성종양이다. 다형선종과 선양낭성암종은 최근 선호되고 있는 국한된 조직의 생검이나 세침흡인세포검사와 같은 비침습적인 검사의 경우 진단의 어려움이 큰 것으로 알려져 있고, 이와 관련하여 Layfield 등²⁾은 세포학적 감별진단의 어려움을 보고 하였다. 최근 들어 타액선 종양에서 감별진단의 어려움을 해결하는 방법으로 면역조직화학적 염색이 유용하게 이용되고 있고, 특이적인 표지자에 관하여 많은 연구가 이루어지고 있다.

C-kit 단백질은 145~160 kD의 분자량을 가지고 있는 re-ceptor tyrosine kinase 계열로서 위장관의 간엽성 종양이나 생식세포 종양에서 발견됨이 알려져 있고, 일부 타액선에서 발생한 암종들에서도 발견된다고 한다.³⁾

Ki-67은 악성도가 높은 종양일수록 발현율이 증가하며,

논문접수일 : 2007년 4월 19일 / 심사완료일 : 2007년 11월 5일

교신저자 : 조성일, 501-717 광주광역시 동구 서석동 588

조선대학교 의과대학 이비인후과학교실

전화 : (062) 220-3200 · 전송 : (062) 225-2702

E-mail : chosi@chosun.ac.kr

*저자 현 소속 : 아주대학교 의과대학 이비인후과학교실

종양의 증식성 표지자로 널리 사용된다.⁴⁾

Glial fibrillary acidic protein(GFAP)은 분자량이 50 kD이며, 별세포의 독특한 세포질 중간세사이다. 신경세포, 근상피 등에서는 발견되지 않으며, 정상적 혹은 병적인 상태하에서 별세포를 확인하는 데 필수적인 표지자로 사용된다. 이것은 뇌의 별아교세포와 뇌실막세포 및 쥐 근육층신경절기의 아교세포에서 주로 발견된다. 몇몇 보고에 따르면 GFAP가 신경이외에서도 분포한다고 기술하고 있고, 타액선의 상피세포, 근상피세포, 그리고 다형선종의 세포 성분 등에 존재한다고 알려져 있다.⁵⁾

종양 억제유전자의 일종인 p53은 세포의 주기 조절과 DNA 수복 및 세포의 계획을 유도하여 비정상 세포의 증식을 억제하는 역할을 한다. 돌연변이를 일으킨 변이형 p53은 정상 단백질의 기능을 상실하고 세포의 형질전환 및 증식을 유도하는 암유전자로 작용하여 악성종양을 일으키고, 이로 인한 생성물은 구조적으로 안정되어 있기 때문에 세포에 축적되어 면역조직화학적 검사로 검출할 수 있게 된다.⁶⁾

타액선 종양에 대한 많은 수의 면역조직화학적 연구가 발표되었음에도 불구하고 그들의 임상적, 진단적인 연관성은 확실하지가 않다. 따라서 저자들은 다형선종과 선양낭성암종 간에 c-kit, Ki-67, GFAP, p53의 면역조직화학적 발현양상을 조직학적으로 확진된 환자들을 대상으로 비교 검토하여 각각의 표지자가 두 종양을 감별하는 데 표지자로서의 의의가 있는지를 규명함으로써 세침흡인세포검사나 국한된 조직을 통한 감별 진단 시 발생할 수 있는 진단의 어려움을 극복하고자 본 연구를 시도하였다.

재료 및 방법

재 료

중례 선정

1993년부터 2002년까지 주타액선의 타액선 종양으로 진단되어 절제된 다형선종(pleomorphic adenoma) 31예, 선양낭성암종(adenoid cystic carcinoma) 17예로 총 48예로 구성되어 있다. 그리고 대조군으로 정상 타액선 조직과 비종양성 병변인 타액선염 조직을 사용하였다. 정상 타액선 조직은 생검 조직의 정상부위에서 채취하였으며 타석증 등의 원인으로 제거된 비종양성의 타액선염 조직을 대조군으로 취하였다.

실험시약

면역조직화학적 검사에 사용된 1차 항체는 Dako사(Glo-

strup, Denmark)의 polyclonal antibody c-kit(1 : 200), monoclonal antibody Ki-67(MIB-1, 1 : 150), monoclonal antibody GFAP(1 : 150), 그리고 monoclonal antibody p53(DO-7, 1 : 200)을 이용하였으며, 2차항체와 발색제는 각각 Dako사(Denmark)의 LSAB kit와 AEC(3-amino-9-ethyl carbazole) kit를 사용하였다.

방 법

광학현미경적 검사

절제된 조직들은 10% 중성 포르말린에 24시간 고정한다음, 대표적인 부위를 절제하여 통상의 방법에 의해 파라핀에 포매하였다. 포매된 조직은 4 μm 두께로 절편을 만들어 hematoxylin-eosin 염색을 실시하였다. 조직은 2인의 병리과 전문의가 진단하고, 이들의 의견이 일치되는 경우만을 각각 선택하였다.

면역조직화학적 염색

일반 광학현미경 검경 후 10% 완충 중성 포르말린에 고정하여 제작한 파라핀 포매 조직을 4 μm 두께로 박절하여 X-tra™슬라이드(Surgipath, Richmond, U.S.A.)에 부착하여 xylene에 탈 파라핀한 뒤 무수 알코올과, 90%, 75% 및 50% 에탄올에 각각 2분씩 처리하여 함수시킨 후 Dako사의 LSAB kit와 AEC kit를 이용하여 LSAB 방법에 의해 염색을 시행하였다.

항원성 회복을 위하여 citrate 완충액(10 mM, pH 6.0)에 슬라이드를 담가 전자오븐에 15분간 끓인 후 실온에 방치시켜 20분간 식힌 후 50 mM Tris 완충용액(TBS, pH 7.5)으로 수세하였다. 조직절편 내의 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위하여 0.3% hydrogen peroxide-methanol에 10분간 처리하여 증류수로 세척하고 차단항체를 실온에서 10분간 반응시킨 뒤 c-kit는 1 : 200으로, Ki-67은 1 : 150, GFAP는 1 : 150, p53은 1 : 200으로 희석한 일차항체를 1시간씩 반응시켰다. Tris 완충액으로 세척하고 비오틴이 함유된 이차 항체를 실온에서 10분간 반응시킨 후 tris 완충액으로 수세하고, peroxidase가 결합된 streptavidin용액을 10분간 반응시켰다. Tris 완충액으로 세척한 후 AEC로 발색하였다. Mayer's hematoxylin으로 대조염색을 시행하고, universal mount로 봉입하였다.

면역 조직화학적 염색의 결과 판정

염색의 평가는 주관성을 배제하기 위해 2명의 병리 전문의의 도움으로 시행하였고, 현미경적 관찰은 종양의 중

심부에서 시행하였으며, 염색강도는 편차가 심하여 비교대상으로 삼지 않고 염색된 세포의 비율로 평가를 하였다.

C-kit에 대한 염색 결과의 판정은 세포질이나 세포막에 면역조직화학적으로 염색된 세포가 10% 미만인 경우를 음성, 10% 이상인 경우를 양성으로 판정하였는데, 10~25%인 경우를 약한 양성(1+, weak positive), 26~49%인 경우를 중등도 양성(2+, moderate positive), 50% 이상인 경우를 강한 양성(3+, strong positive)으로 분류하였다.⁷⁾

Ki-67에 대한 염색 결과의 판정은 종양세포의 핵내에 뚜렷한 갈색염색이 있는 경우를 양성으로 판정하였으며, 1,000개 이상의 종양세포를 대상으로 평가하여 양성을 보이는 세포를 백분율로 환산하였다.⁸⁾

GFAP에 대한 염색결과의 판정은 내강을 피복하는 종양세포(neoplastic ductal epithelial cells)와 근상피세포로 여겨지는 내강피복세포 외각의 종양세포(nonluminal tumor cells)를 대상으로 종양세포 세포질에 분명한 갈색과립이

있는 세포가 하나라도 발견되면 양성으로 판정하였다.⁹⁾

p53에 대한 염색의 판정은 세포핵 안에 갈색 과립이 있는 세포를 기준으로 하여, 핵내 염색소견을 보이는 세포가 전체 종양세포의 10% 이상이면 양성으로, 10% 미만이면 음성으로 판정하였는데, 10~25%인 경우를 약한 양성(1+, weak positive), 26~49%인 경우를 중등도 양성(2+, moderate positive), 50% 이상인 경우를 강한 양성(3+, strong positive)으로 판정하였다.¹⁰⁾

통계학적 검증

통계 분석은 SPSSPC 11.0 package를 이용하였다. 다형선종과 선양낭성암종 간 c-kit와 Ki-67, GFAP, 그리고 p53의 양성발현을 비교는 χ^2 -test와 Fisher's exact test를 이용하였다. Ki-67의 두 종양 간 평균 발현율은 student t-test를 이용하여 비교하였고, 통계적 유의수준은 $p < 0.05$ 로 정하였다.

결 과

C-kit에 대한 염색결과

대조군으로 염색한 정상 타액선 조직과 비종양성 병변인 타액선염에 대한 염색에서는 음성으로 관찰되었다. 다형선종은 3예에서 음성 소견을 보였고, 28예(90%)에서 양성 소견을 보였는데 그 중 23예에서 강한 양성 소견을 보였다. 선양낭성암종은 17예(100%) 모두 양성 소견을 보였는데 그중 13예에서 강한 양성 소견을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 1). 광학현미경상 다형선종 및 선양낭성암종 모두 세포질내 염색을 보이며 세포막에 더 강한 염색 소견이 관찰되었다(Fig. 1).

Table 1. C-kit expression in pleomorphic adenoma and adenoid cystic carcinoma of the salivary gland

Tumors	C-kit expression				Positive (%)
	Negative	Positive			
		Weak	Moderate	Strong	
PA (n=31)	3	2	4	22	28 (90.0)
ACC (n=17)	0	1	3	13	17 (100.0)

PA : pleomorphic adenoma, ACC : adenoid cystic carcinoma

Table 2. Ki-67 labeling indices in pleomorphic adenoma and adenoid cystic carcinoma of the salivary gland

Tumors	Ki-67 labeling indices (mean ± SD)
PA (n=31)	6.93 ± 4.09
ACC (n=17)	3.62 ± 4.51

PA : pleomorphic adenoma, ACC : adenoid cystic carcinoma

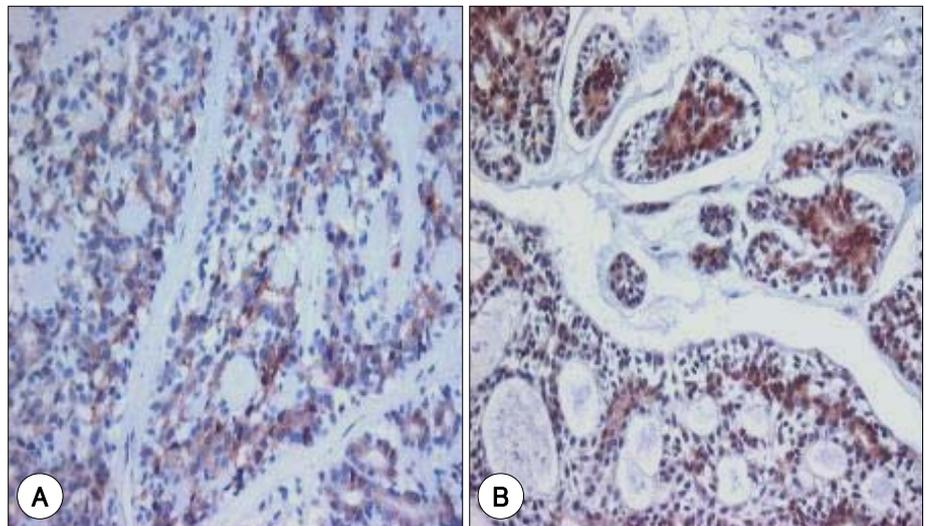


Fig. 1. Immunohistochemical staining for c-kit. C-kit immunoreactivities were positive in the cytoplasm of neoplastic cell in pleomorphic adenoma (A) and adenoid cystic carcinoma (B) (LSAB method, counterstained by Mayer's hematoxylin, ×100).

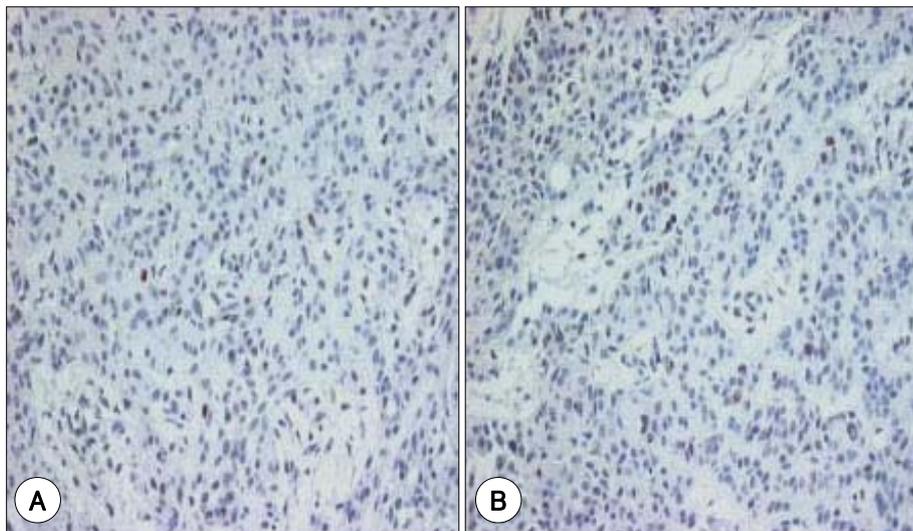


Fig. 2. Immunohistochemical staining for Ki-67. Ki-67 indices showed less than 10% of tumor cells in pleomorphic adenoma (A) as well as in the adenoid cystic carcinoma (B) (LSAB method, counterstained by Mayer's hematoxylin, $\times 100$).

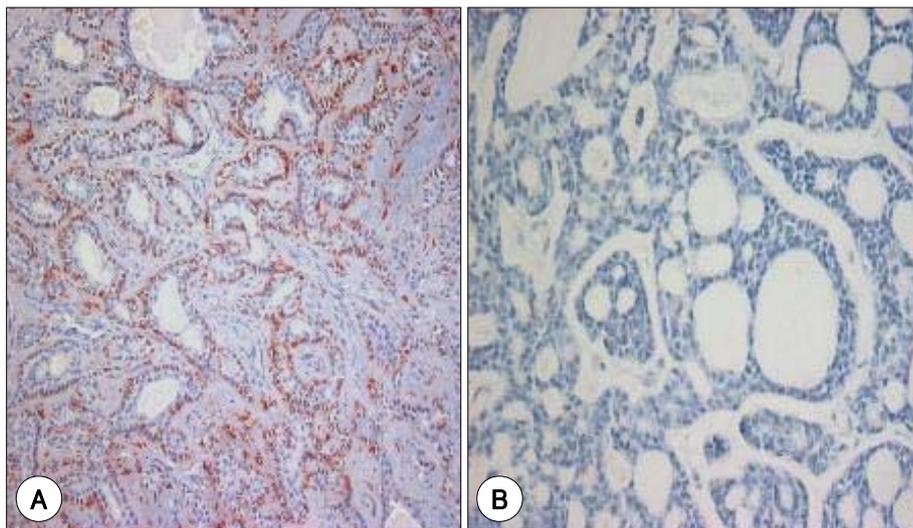


Fig. 3. Immunohistochemical staining for GFAP. In the pleomorphic adenoma (A), GFAP immunoreactivity was negative in the neoplastic ductal epithelial cells, but strong positive in the nonluminal tumor cells. In the adenoid cystic carcinoma (B), GFAP immunoreactivity was negative in the neoplastic ductal epithelial cells and nonluminal tumor cells (LSAB method, counterstained by Mayer's hematoxylin, $\times 100$).

Ki-67에 대한 염색결과

대조군으로 염색한 정상 타액선 조직과 비종양성 병변인 타액선염에 대한 염색에서는 1% 미만의 양성 발현율을 보였다. 다형선종과 선양낭성암종 모두 양성 소견을 보였고, 다형선종의 양성발현율은 평균 $6.93 \pm 4.09\%$ 였고, 선양낭성암종의 경우는 $3.62 \pm 4.51\%$ 였다. 다형선종의 발현율이 선양낭성암종보다 증가한 결과를 보였으나 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 2). 광학현미경상 다형선종 및 선양낭성암종 모두 충실성 성장을 보이는 곳이 그렇지 않은 곳에 비해 Ki-67 지수가 약간 증가되는 양상이 있었다(Fig. 2).

GFAP에 대한 염색 결과

대조군으로 염색한 정상 타액선 조직과 비종양성 병변인

Table 3. Glial fibrillary acidic protein in pleomorphic adenoma and adenoid cystic carcinoma of the salivary gland

Tumors	GFAP expression (%)	
	Negative	Positive
PA (n=31)	8 (26.0)	23 (74.0)*
ACC (n=17)	17 (100.0)*	0(0.0)

* $p < 0.05$. GFAP : glial fibrillary acidic protein, PA : pleomorphic adenoma, ACC : adenoid cystic carcinoma

타액선염에 대한 염색에서는 음성으로 관찰되었다. 다형선종의 경우 8예(26%)에서 음성 소견을 보였고, 23예(74%)에서 양성 소견을 보였다. 선양낭성암종의 경우 17예(100%)전부에서 음성 소견을 보여 통계적으로 매우 유의한 차이를 보였다(Table 3). 광학현미경상 다형선종은 내강을 피복하는 종양세포(neoplastic ductal epithelial cells)는 음성이었으나, 근상피세포로 여겨지는 종양세포(nonluminal

tumor cells)는 강한 양성 소견을 보였고, 선양낭성암종은 내강을 피복하는 종양세포(neoplastic ductal epithelial cells)는 물론 근상피세포로 여겨지는 종양세포(nonluminal tumor cells) 모두 음성 소견을 보였다(Fig. 3).

p53에 대한 염색 결과

대조군으로 염색한 정상 타액선 조직과 비종양성 병변인 타액선염에 대한 염색에서는 음성으로 관찰되었다. 다형선종의 경우 10예에서 음성 소견을 보였고, 21예(68%)에서 약한 양성 소견을 보였다. 선양낭성암종의 경우 5예에서 음성소견을 보였고, 12예(71%)에서 약한 양성 소견을 보였으나 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 4). 광학현미경상 선양낭성암종의 경우는 충실성 성장을 보이는 곳이나 선양양 성장을 하는 곳 모두 동일한 염색 정도를 보였다(Fig. 4).

고 찰

타액선 종양은 전체 종양의 1%, 두경부 종양의 3% 정도를 차지하고 있는 것으로 보고되고 있으나¹⁾ 다양한 병리조직학적 소견, 해부학적으로 중요 신경과의 연관성, 타종양과의 생물학적 특성(biological behavior)이 다르다는

Table 4. p53 expression in pleomorphic adenoma and adenoid cystic carcinoma of the salivary gland

Tumors	p53 expression				Positive (%)
	Negative	Positive			
		Weak	Moderate	Strong	
PA (n=31)	10	21	0	0	21 (68.0)
ACC (n=17)	5	12	0	0	12 (71.0)

PA : pleomorphic adenoma, ACC : adenoid cystic carcinoma

점 등으로 인해 적절한 치료방침을 세우는 데 어려움이 있다.

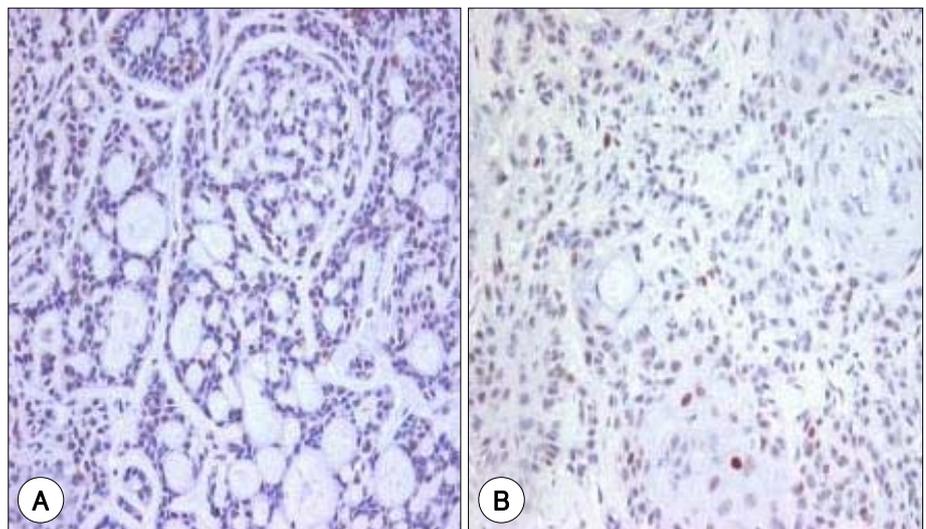
타액선 종양은 대부분이 상피에서 기원하나, 드물게는 상피 이외의 간질조직에서도 발생하고 있다. 타액선의 상피성 양성종양은 다형선종, Warthin 종양, 호산성 과립세포종, 단형선종, 피지선종 등이 있으며, 악성종양은 악성 혼합종, 점막상피암, 선양낭성암종, 포상세포암종 등이 있다. 저자는 타액선에 비교적 흔히 발생하지만, 병리조직학적으로 유사한 점이 많은 다형선종과 선양낭성암종을 대상으로 삼았다.

다형선종은 모든 타액선종양의 65%를 차지하는 가장 흔한 종양이다.¹¹⁾ 육안적 소견은 표면이 평탄하고 분엽되었고 경계가 명확한 피막에 싸여있으며, 절단면은 세포성분과 점액성분에 따라 다르게 나타나는데, 일반적으로 회색 혹은 청색으로 연골양 조직의 함량에 따라 다르게 나타난다. 현미경 소견은 상피 및 간엽성분이 모두 있으며, 상피성분은 점액양 기질과 섬유양 기질 내에 섬유주 형태(trabecular pattern)를 이루고 있고, 기질 성분의 근원으로 여겨지는 근상피세포는 점액양 부위에서 흔히 보인다. 기질은 종양에 따라 다르게 나타나며, 한 종양 내에서도 기질은 점액양(myxoid), 섬유양(fibronoid), 연골양(chondroid), 유골(osteoid)의 형태로 단독 혹은 복합적으로 나타난다.

선양낭성암종은 점액표피암종에 이어 두 번째로 흔한 악성종양이다. 종양의 성장모양은 관상형(tubular), 사상형(cirbriform) 및 충실형(solid) 양상을 보이는데 이 중에서 관상형이 가장 예후가 좋고, 충실형이 가장 나쁘다고 알려져 있다.

타액선에서 종물이 촉진되면 정확한 진단과 악성 유무를 확인하기 위해서는 병리조직학적 검사가 가장 중요하다. 검사 방법으로는 세침흡인세포검사, 절개생검, 수술 중의 동결절편, 그리고 수술 후 절제한 조직의 병리조직학적 검사

Fig. 4. Immunohistochemical staining for p53 protein. In the pleomorphic adenoma (A) as well as in the adenoid cystic carcinoma (B), p53 protein expressed weak positive (1+) nuclear staining of tumor cells (LSAB method, counterstained by Mayer's hematoxylin, ×100).



등이 있다.

세침흡인세포검사는 최근 들어 타액선 병변에 대한 기본 검사 또는 일차검사로 널리 이용되고 있으나, 타액선종양이 상피적, 기질적 양요소의 변이를 가지므로 병리조직 자체가 복잡하여 세포조직학적 판독에 어려움이 있다는 점과 해부학적으로 잠복 종양을 찾기 어려운 점 등으로 인하여 임상적으로 많은 제한을 가진다. 세침흡인세포검사에서 다형선종의 경우 점액표피암종과 선양낭성암종으로 오진될 수 있는데, Layfield 등²⁾은 다형선종과 분화가 잘 된 선양낭성암종과의 세포학적 감별진단의 어려움을 보고하였으며, Nagel 등¹²⁾은 선양낭성암종으로 진단된 31예 중 24예(77%)에서만이 세침흡인세포검사서 정확한 진단이 되었다고 하였다. 다른 연구자의 경우에서도 이 같은 어려움을 해결하고자 타액선 종양에 특이적인 표지자를 이용하여 면역조직화학적 염색을 이용한 방법이 시도되고 있어⁵⁾ 저자들도 이러한 어려움을 해결하는 데 도움이 될 수 있는 표지자, 즉 C-kit, Ki-67, GFAP, p53을 가지고 조직학적으로 확진된 예를 대상으로 면역조직화학적 염색을 실시하여 두 종양의 감별진단에 이용하고자 하였다.

C-kit을 사용하여 Jeong 등³⁾은 선양낭성암종의 경우 종래의 80%에서 양성 발현을 보인다고 보고 하였고, Edwards 등¹³⁾은 선양낭성암종의 경우 100% 양성반응, 다형선종의 경우도 94%에서 양성반응을 보여 두 암종을 구별하는 데 c-kit는 표지자의 역할을 하지 못한다고 발표하였다. 본 연구에서도 다형선종의 경우 31예 중 28예(90%)에서 양성 소견을 보였고, 그 중 23예에서는 강한 양성 소견을 보였다. 선양낭성암종의 경우 17예 중 17예(100%) 전부에서 양성 소견을 보였고, 그 중 13예에서 강한 양성 소견을 보여 유사한 소견을 보였다. 따라서 c-kit는 종양성 병변에서는 모두 증가하는 양상을 보이지만, 양성종양과 악성종양 간에는 통계학적으로 유의한 차이는 보이지 않았다.

Ki-67 항원은 세포주기의 모든 활성기(G1, S, G2, M)중에 발현되는 핵의 조직단백으로 G0과 G1의 초기에는 발현되지 않는다. 면역조직화학적 염색을 이용한 Ki-67 항원의 발현은 세포의 증식능을 나타내는 신뢰할 수 있는 표지자로 유방암, 대장직장암, 자궁경부 편평세포암 등 다양한 악성종양에서 임상적 예후와 상관성을 보이는 인자로 받아들여져 왔으나 두경부암에 대해서는 많은 연구가 진행되지 않았다.⁴⁾ 본 연구에서는 Ki-67 지수가 31예의 다형선암종의 경우 평균 $6.93 \pm 4.09\%$ 였고, 17예의 선양낭성암종의 경우 평균 $3.62 \pm 4.51\%$ 로 양성종양인 다형선종에서 좀 더 높은 Ki-67 지수를 보였으나 통계학적으로 유

의한 차이를 나타내지 않았다.

신경계의 표지자로 알려진 GFAP는 타액선 상피세포, 근상피세포, 다형선종의 세포성분에 존재한다고 알려져 있다.⁵⁾ Ostrzega 등¹⁴⁾은 다형선종과 선양낭성암종, 점액표피암종과의 GFAP를 이용한 면역조직화학적 염색을 통해 진단의 향상을 보고하였고, Ogawa 등¹⁵⁾은 다형선종과 사상형 선양낭성암종의 감별진단에 면역조직화학적 염색을 이용하였으며, S-100, GFAP 등의 표지자가 사용되었다. Nishimura 등¹⁶⁾은 정상 타액선 조직, 다형선종, 선양낭성암종에서 GFAP, S-100, keratin 등의 표지자를 이용하여 면역조직화학적 염색을 시행하였고, GFAP는 다형선종에서만 양성소견을 보였고 정상이나 다른 타액선 종양에서는 음성을 보였다고 발표하여 다형선종과 다른 타액선종양 즉, 선양낭성암종과의 감별진단에 사용될 수 있는 표지자라고 발표하였다. 본 연구에서도 다형선종의 경우 31예 중 23예(74%)에서 양성 소견을 보였으며, 선양낭성암종의 경우 17예(100%) 전부에서는 음성 소견으로 통계적으로 유의한 차이를 보여 GFAP를 이용한 면역조직화학적 염색이 두 종양의 감별 진단에 도움이 될 수 있는 표지자로 생각된다. Luo 등⁹⁾은 선양낭성암종에서 GFAP를 이용한 면역조직화학적 염색상 90%에서 양성을 보였다고 하였으나, 이것은 본 연구와 달리 내강을 피복하는 종양세포와 근상피세포로 여겨지는 내강피복세포 외각의 종양세포를 대상으로 GFAP의 양성 발현여부를 평가한 것이 아니라 사이의 기질 내에서 발현되는 경우까지 모두 양성으로 평가하였던 것으로 추정된다.

p53 유전자는 사람의 17번 염색체의 단완(17q13)에 위치하는 세포증식을 조절하는 393개 아미노산으로 구성된 53 kD의 핵인 단백질(nuclear phosphoprotein)로서 11개의 exon으로 이루어져 있고, 세포주기의 조절, DNA 복구, 세포자멸사(apoptosis)에 관여하여 세포의 증식과 변형을 억제하며, 핵인 단백질을 암호화하여 세포주기 중 특히 G0기에서 G1기로의 이행에 관여한다고 알려져 있다.¹⁷⁾ 그러나 돌연변이와 같은 손상이 야생형 p53에 영향을 주면 돌연변이형 p53의 복제가 발생하여 종양으로의 전환을 야기할 수 있다. 돌연변이가 발생하게 되면 암 억제 기능을 하지 못하는 변이형 p53으로 변화하여 세포에 축적되며, 비정상적으로 긴 반감기를 갖게 되어 면역조직화학적 검사로 검출이 가능하게 된다. 두경부를 비롯해 피부, 폐, 유방, 난소, 식도 및 대장 등에서 발생하는 악성종양 중에서 가장 흔한 돌연변이이며, 대부분의 암종에서 약 50% 정도 발현된다고 알려져 있다. 타액선 종양의 경우 Weber 등¹⁸⁾은 다형선종 42예 중 4예(10%)에서 변이형 p53이

발현되었다고 발표하였고, Wang 등¹⁹⁾은 다형선종에서 악성종양에서나 볼 수 있는 p53의 돌연변이를 관찰할 수 있다고 발표하였다. Nordkvist 등²⁰⁾은 타액선에 발생한 악성종양과 양성종양을 대상으로 p53의 돌연변이 발생에 대하여 발표하였으며, p53의 과발현을 세포핵내에 염색된 세포가 전체 종양세포의 10% 이상일때로 정의하여 237예의 악성종양 중 20%에서 과발현을 보였고, 양성종양의 경우 10%이상 염색된 경우는 없었다고 하였다.

본 연구에서는 p53의 염색결과가 다형선종의 경우 10예에서는 음성, 21예에서는 약한 양성을 보였으며, 선양낭성암종의 경우 5예에서는 음성, 12예에서는 약한 양성 소견을 보여 두 종양 모두 변이형 p53이 존재함을 알 수 있었으나, 두 종양에서 통계학적으로 유의한 차이를 찾을 수는 없었다.

결론

다형선종과 선양낭성암종에 대한 면역조직화학적 염색에서 c-kit, Ki-67, p53의 결과는 두 종양 사이에 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으나, GFAP의 면역조직화학적 발현의 결과는 다형선종의 경우 74%에서 양성, 선양낭성암종의 경우 100%에서 음성소견을 보여 두 종양 사이에 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$).

따라서, GFAP 표지자는 다형선종과 선양낭성암종에서 면역조직화학적염색 시 발현의 현격한 차이를 보여줌으로써, 타액선 병변의 기본검사로 널리 이용되는 세침흡인세포검사나 국한된 조직을 이용한 진단 시 발생할 수 있는 두 종양의 감별과 진단의 어려움을 극복하는 데 유용한 표지자로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

중심 단어 : Glial fibrillary acidic protein · 다형선종 · 선양낭성암종.

REFERENCES

- 1) Spiro RH. Salivary neoplasms: Overview of a 35-year experience with 2,807 patients. *Head Neck Surg* 1986;8 (3):177-84.
- 2) Layfield LJ, Tan P, Glasgow BJ. Fine-needle aspiration of salivary gland lesions. Comparison with frozen sections and histologic findings. *Arch Pathol Lab Med* 1987;111 (4):346-53.
- 3) Jeng YM, Lin CY, Hsu HC. Expression of the c-kit protein is associated with certain subtypes of salivary gland carcinoma. *Cancer Lett* 2000;154 (1):107-11.

- 4) Schulte-Hermann R, Grasl-Kraupp B, Bursch W. Tumor development and apoptosis. *Int Arch Allergy Immunol* 1994;105 (4):363-7.
- 5) Bock E, Rasmussen S, Moller M, Ebbesen P. Demonstration of a protein immunochemically related to glial fibrillary acidic protein in human fibroblasts in culture. *FEBS Lett* 1977;83 (2):212-6.
- 6) Banks L, Matlashewski G, Crawford L. Isolation of human-p53-specific monoclonal antibodies and their use in the studies of human p53 expression. *Eur J Biochem* 1986;159 (3):529-34.
- 7) Entz-Werlé N, Marcellin L, Gaub MP, Guerin E, Schneider A, Bernard-Marec P, et al. Prognostic significance of allelic imbalance at the c-kit gene locus and c-kit overexpression by immunohistochemistry in pediatric osteosarcomas. *J Clin Oncol* 2005;23 (10):2248-55.
- 8) Xiao EH, Li JQ, Huang JF. Effect of preoperative transcatheter arterial chemoembolization on proliferation of hepatocellular carcinoma cells. *World J Gastroenterol* 2007;13 (33):4509-13.
- 9) Luo XL, Sun MY, Lu CT, Zhou ZH. The role of Schwann cell differentiation in perineural invasion of adenoid cystic and mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2006; 35 (8):733-9.
- 10) Grizzle WE, Myers RB, Manne U, Srivastava S. Immunohistochemical evaluation of biomarkers in prostatic and colorectal neoplasia. In: Hanausek M, Walaszek Z, editors. Tumor marker protocols. Methods in molecular biology. Volume 14. Totowa, NJ: The Humana Press Inc ;1998.p.143-60.
- 11) Oh KK, Lee GH, Choo MJ, Shim YS. Benign mixed tumor of the salivary glands: A clinical study. *Korean J Otolaryngol-Head Neck surg* 1992;35 (5):632-9.
- 12) Nagel H, Hotze HJ, Laskawi R, Chilla R, Droese M. Cytologic diagnosis of adenoid cystic carcinoma of salivary glands. *Diagn Cytopathol* 1999;20 (6):358-66.
- 13) Edwards PC, Bhuiya T, Kelsch RD. C-kit expression in the salivary gland neoplasms adenoid cystic carcinoma, polymorphous low-grade adenocarcinoma and monomorphic adenoma. *Oral Surg Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;95 (5):586-93.
- 14) Ostrzega N, Cheng L, Layfield L. Glial fibrillary acid protein immunoreactivity in fine-needle aspiration of salivary gland lesions: A useful adjunct for the differential diagnosis of salivary gland neoplasms. *Diagn Cytopathol* 1989;5 (2):145-9.
- 15) Ogawa I, Miyauchi M, Matsuura H, Takata T. Pleomorphic adenoma with extensive adenoid cystic carcinoma-like cribriform areas of parotid gland. *Pathol Int* 2003;53 (1):30-4.
- 16) Nishimura T, Furukawa M, Kawahara E, Miwa A. Differential diagnosis of pleomorphic adenoma by immunohistochemical means. *J Laryngol Otol* 1991;105 (12):1057-60.
- 17) Nigro JM, Baker SJ, Presinger AC, Jessup JM, Hostetter R, Cleary K, et al. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumor types. *Nature* 1989;342 (6250):705-8.
- 18) Weber A, Langhanki L, Schütz A, Gerstner A, Bootz F, Wittekind C, et al. Expression profiles of p53, p63 and p73 in benign salivary gland tumors. *Virchows Arch* 2002;444 (5):428-36.
- 19) Wang J, Dong F, Yong P. Tumor suppressor p53 gene sequence mutations in pleomorphic adenoma of salivary gland. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 1999;79 (10):777-9.
- 20) Nordkvist A, Roijer E, Bang G, Gustafsson H, Behrendt M, Ryd W, et al. Expression and mutation patterns of p53 in benign and malignant salivary gland tumors. *Int J Oncol* 2000;6 (3):477-83.