

## 체액 검체에서 톨루이딘 블루 염색의 유용성

가톨릭의대 부속 성모병원 병리과, 전주예수병원 해부병리과\*

이 혜 경 · 주 명 진\* · 이 광 민\* · 이 은 희 · 심 상 인

= Abstract =

### Availability of Toluidine Blue Stain in Body Fluid

Hye Kyung Lee, M.D., Myung Jin Joo, M.D.\*, Kwang Min Lee M.D.\*,  
Eun Hee Lee, M.D., and Sang In Sim, M.D.

Department of Clinical Pathology, Catholic University Medical College,  
Department of Anatomical Pathology, Presbyterian Medical Center, Chonju\*

We evaluated the availability of toluidine blue stain in body fluids, such as peritoneal and pleural fluid and urine. Nine hundreds specimens, i.e., 400 pleural and 400 peritoneal fluids and 100 urine samples, respectively, from Jan. 1995 to May 1996 were included. We obtained the result of high sensitivity and high specificity in toluidine blue stained body fluid in comparison with Papanicolaou stained result. Additionally, we found the diagnostically important crystals in chylothorax and some urine samples, which can not be seen in routine Papanicolaou stain. We thought the toluidine blue stain in body fluid is one of very useful diagnostic methods.

**Key words:** Toluidine blue stain, Body fluid

## 서 론

체강내 비정상적으로 많은 양의 체액이 고일 때 진단 및 치료 목적으로 체액을 배액시켜 세포학적 검사를 시행하는데, 그 임상적 의의는 악성 세포의 존재를 확인하는 것과 증상을

완화시키는 것 두가지이다<sup>1~4</sup>. 악성 세포의 유무를 판별하는 것이 항상 쉬운 일은 아니어서 통상의 방법인 Papanicolaou(이하 Pap)염색 이외에 종양 표지자의 정량 검사, 면역조직화학적 검사 등 여러 가지 검사를 보조적으로 사용하고 있는데, 비교적 경제적이며 간단하고

논문은 96년 세포병리학회에서 구연 발표하였음.

짧은 시간 내에 정확한 진단을 할 수 있는 톨루이딘 블루 염색은 그리 많이 알려져 있지 않다<sup>5-8)</sup>. 이에 저자들은 체강액의 세포학적 검색에서 톨루이딘 블루 염색의 진단적 가치와 유용성을 알고자 하였다.

## 재료 및 방법

연구재료는 1995년 1월부터 1996년 6월까지 전주예수병원과 대전성모병원 병리과에 보내진 총 900예의 체액, 즉 400예의 흉수, 400예의 복수, 100예의 소변을 대상으로 하였다. Pap염색과 톨루이딘 블루 염색을 동시에 시행하여 그의 세포학적 소견을 검색하였다. 톨루이딘 블루 염색 시약은 톨루이딘 블루 분말 0.5 g, 95% 에탄올 20 ml, 증류수 80 ml를 섞어서 만든 후 냉장 보관하여 사용하였으며, 염색 방법은 원심침전한 체강액 한 방울과 톨루이딘 블루 염색 시약 한 방울을 섞어 덮개 유리를 덮은 후 10분 후에 판독하였다. 판독한 결과는 각 검체에 따라 Pap염색의 결과와 비교하여 톨루이딘 블루 염색의 민감도와 특이도를 살펴보고 두 검사방법 간의 일치도를 알아보기 위해 kappa통계량 방법에 의해 분석하였다.

## 결 과

총 900예의 체액을 대상으로 톨루이딘 블루 염색 후 판독한 결과를 Pap염색의 결과와 비교하여 그의 민감도와 특이도에 대해 알아보았다. 각 400예의 흉수, 400예의 복수, 100예의 소변을 검색하였을 때 흉수와 복수에서는 95% 이상의 민감도와 특이도를 보였으며 소변에서는 85%의 민감도와 84%의 특이도를 보였다 (Table 1). Kappa통계량 분석에 의해 복수, 흉수와 소변 모두 P값이 0.05보다 적어 의미가

Table 1. Diagnostic value of toluidine blue stain comparing with Pap stain

Body fluid	Positive rate of malignant cell in Pap stain	Sensitivity	Specificity
Peritoneal fluid	45% (178/400)	97% (173/178)	95% (212/222)
Pleural fluid	33% (132/400)	96% (127/132)	95% (254/268)
Urine	33% (33/100)	85% (28/33)	84% (56/67)

Table 2. Kappa statistical analysis of the body fluids

Body fluid	Kappa value	P value
Peritoneal fluid	0.924	0.000
Pleural fluid	0.894	0.000
Urine	0.654	0.000

있었다. 복수, 흉수는 Kappa값이 1에 가까와 두 검사결과가 거의 일치하였으나 소변의 경우 Kappa 값이 0.654로 비교적 낮았다 (Table 2).

광학현미경소견 상 톨루이딘 블루 염색 후 관찰할 수 있는 세포는 중피세포, 암종세포, 염증세포, 이행상피세포 등이었다. 이러한 세포는 통상의 Pap 염색 후의 세포에 비해 약간 큰 편이었으며 핵의 모양, 핵 내 염색질의 양상, 그리고 핵소체 등 핵의 변화를 좀 더 자세히 관찰할 수 있었다 (Fig. 1a, b). 암세포와의 감별진단시 반응성 중피세포는 수 분 내에 세포질이 청자색으로 염색되는 것과 달리 악성세포의 균집일 때는 세포질에 염색이 되지 않거나 느린 속도로 염색되고 핵과 세포질 비율의 불균형, 염색질의 과립형태, 뚜렷한 핵소체, 불규칙한 핵 모양과 같은 핵의 변화들이 감별진단에 도움을 주었다 (Fig. 2a, b). 이외에 유미흉, 소변 내 결석 결정체와 같이 Pap염색에서

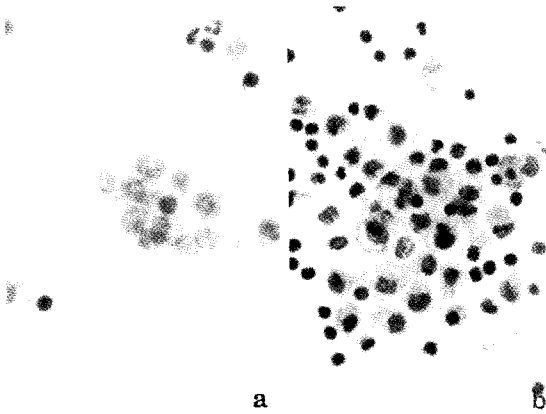


Fig. 1. Comparative cytologic finding of benign mesothelial cells(a: toluidine blue and b: Pap,  $\times 400$ )

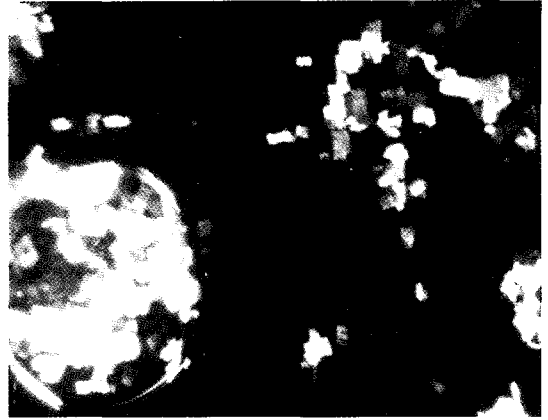


Fig. 3. Rhomboidal crystals in chylothorax(toluidine blue,  $\times 400$ )

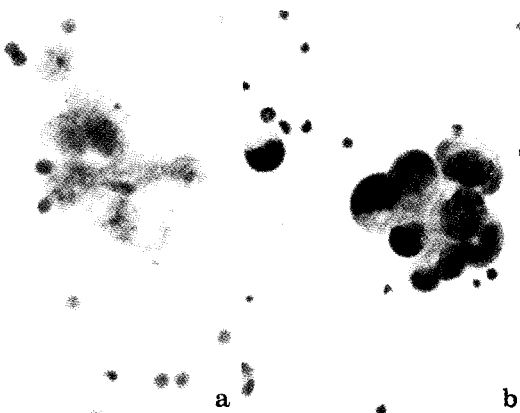


Fig. 2. Comparative cytologic finding of adenocarcinoma cells(a: toluidine blue and b: Pap,  $\times 400$ )

는 볼 수 없었던 구조도 관찰할 수 있었다(Fig. 3).

## 고 찰

체액의 세포학적 검색시 염색 방법으로는 Pap염색, Diff-Quik염색(국제시약, 일본), 톨루이딘 블루 염색, Wright-Giemsa염색 등이 있다.

Pap 염색은 가장 흔히 사용하는 방법으로 객관적인 정도관리가 가능한 방법이나 검체 채취 당시 신속히 시행하기는 어렵다. 검사 당시 빠른 시간내에 임상적인 도움을 얻을 수 있는 방법으로는 Diff-Quik염색, 톨루이딘 블루 염색, Wright-Giemsa염색이 있으며 이 중 Diff-Quik염색은 현재 많이 사용되고 있으나 톨루이딘 블루 염색은 국내에서 그리 많이 사용하지 않고 있다. 이에 저자들은 가장 값싸고 오직 한 과정으로 염색이 가능한 톨루이딘 블루 염색의 진단적 유용성을 알아보려고 하였다.

체액의 톨루이딘 블루 염색의 장점으로서는 경제적이며 간단한 염색으로 빠른 시간 내에 검체의 진단 결과를 알 수 있다는 점, 미리 중요검체에 대한 주의를 할 수 있다는 점, 지방 성분과 같이 통상의 Pap 염색과정 중 녹아버리는 물질들을 확인할 수 있다는 점, 한가지의 검체에 대해 세포검색의 과정을 한 번 더 시행함으로써 좀 더 정확한 진단을 할 수 있다는 점 등이며 단점으로는 염색 후 30분 이내에 판독을 해야하며 영구 보존이 어려운 점이다.

Pap염색은 그 자체 검사 결과의 민감도나 특이도가 100%가 아닌 검사이며 제한점이 있으므로 절대적인 대조군이라고 할 수는 없다.

그러나 현실적으로 세포학적 검사에서 전이성 악성 종양으로 진단한 경우 조직 검사를 시행하는 경우는 매우 적어 조직검사로 확인한 예만을 대상으로 연구하는 것이 어려워 본 연구는 모든 검사실에서 가장 흔히 시행하는 Pap 염색의 결과를 대조군으로 정하였다. 저자들이 검색해 본 바 툴루이딘 블루의 결과는 민감도와 특이도가 Pap 염색과 비교해 보았을 때 거의 95%에 달하는 높은 진단율을 보여 신뢰할 수 있었다. Kappa 통계량 분석에 의한 복수와 흉수의 kappa 값은 1에 가깝고 p 값이 0.05보다 적어 두 검사가 일치하는 결과를 보였다. 소변의 경우 kappa 값이 0.654로 비교적 낮았으나 이는 대상 수가 적기 때문으로 생각하였다. 체액의 세포학적 검색에서 판독해야 할 세포의 종류는 많지 않으며 주로 중피 세포, 악성 세포, 염증세포 등이다. 이 중 반응성 중피 세포와 악성 세포의 감별 진단이 쉽지 않은데 가장 중요한 점은 핵의 비정상적 모양이었다. 툴루이딘 블루 염색에서는 핵내의 염색질의 변화를 잘 관찰할 수 있으므로 핵과 세포질 비율의 불균형, 염색질의 과립형태, 뚜렷한 핵소체, 불규칙한 핵 모양 등이 진단에 도움을 주는 소견이었다. 이 외에도 중피 세포의 세포질은 강한 청자색으로 염색되는데 비해 악성 세포의 균집에서는 세포질이 염색이 잘 되지 않는 경향이었고 인환세포 암종인 경우는 오히려 강한 청자색으로 염색되었다.

유미홍과 같이 지용성 물질인 경우 Pap 염색에서는 관찰할 수 없었던 소견이 툴루이딘 블루 염색에서는 결정체로 나타나 진단에 도움을 주었으며, 소변에서도 Pap 염색으로는 볼 수 없었던 결정체가 툴루이딘 블루 검사에서는 관찰할 수 없어 요산, 혹은 칼슘결석의 가능성을 제시할 수 있었다. 체액내 악성 림프종과 같은 혈액종양이 파급하였을 때 통상의 Pap 염색으로는 세포의 위축에 의해 세밀한 세포구조를 판독하기 어려웠으나 툴루이딘 블루 염색

후 시간의 지체없이 혈액 세포기원 암의 의진하에 Wright-Giemsa 염색을 하여 진단에 도움을 받을 수 있었다. 이에 Nylor<sup>1)</sup>는 모든 체액의 세포학적 검사에서 툴루이딘 블루 염색을 하여 면역조직화학적 검사나, 유세포 측정기, 혹은 또 다른 검사가 필요한 것인지를 결정하는 것이 중요하다고 하였다. 그리고 체액 내 종양 세포가 매우 적은 수로 존재할 때 간단한 세포 검색과정을 더 시행함으로써 어느 하나의 방법에서 놓칠 수 있는 세포의 진단율을 높일 수 있다고 생각한다.

툴루이딘 블루 염색의 또 하나의 장점으로 신속한 정보를 들 수 있는데 일례로서 응급 위내시경을 시행하던 환자에서 생리 식염수를 넣고 흡입한 위세척액으로 툴루이딘 블루 세포학적 검사를 하여 내시경 검사가 끝나기 전에 암세포의 존재를 확인하고 임상 의에게 정보를 알려준 경우가 있었다. 이러한 경험을 바탕으로 현재 본 병원에서는 간담도내시경 검사시 술질로 내강세포를 얻어 툴루이딘 블루 검사로 암세포의 유무를 판정하여 내시경 시술 중에 임시 판독 결과를 알려주고 있다.

저자들은 Pap 염색에 의한 세포소견에 익숙해져 있었기 때문에 세포가 위축하지 않은 상태의 툴루이딘 블루 염색이 생소하여 처음에는 진단의 착오가 있었으나 지속적인 검색 후에는 거의 95% 이상의 일치율을 얻었고, 툴루이딘 블루 염색이 Pap 염색으로는 놓칠 수 있는 소견을 추가로 볼 수 있는 장점이 있었다.

## 결 론

저자들은 1995년 1월부터 1997년 6월까지 전주 예수병원과 대전 성모병원 병리과에 보내진 총 900예의 체액, 즉 400예의 흉수, 400예의 복수, 100예의 소변을 대상으로 툴루이딘 블루 염색을 시행한 후 그의 세포학적 소견을

검색하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 흉수와 복수에서는 96% 이상의 민감도와 특이도를 보였으며 소변에서는 96%의 민감도와 87%의 특이도를 보였다.
2. 유미흉, 소변내 결석 결정체과 같이 Pap염색으로는 진단할 수 없는 경우에 도움을 얻었다.
3. 악성림프종, 백혈병과 같이 세포유형의 결정을 위한 특수 염색이 필요한 경우 신속하게 추가 보조 검사를 동시에 시행하여 진단에 소요되는 시간을 줄일 수 있었다.
4. 검사 시술중 빠른 정보를 줄 수 있었다.

이에 저자들은 체액 검체의 세포학적 검색 시에는 툴루이딘 블루 염색을 동시에 시행하는 것이 도움을 준다고 생각한다.

## 참 고 문 헌

1. Nylor B. Pleural, Peritoneal and pericardial fluids. In: Bibbo M. Comprehensive cytopathology, 1st ed, Philadelphia, WB Saunders, 1991, pp541-614.
2. McCormack LJ, Hazard JB, Effler DB, Groves LK, Belovich D: Experience with cytologic examination of bronchial swabings in diagnosis of cancer of lung: Study of 602 cases. *J Thorac Surg* 29:277-282, 1955
3. Dines DE, Pierre RV, Franzen SJ. The value of cells in the pleural fluid in the differential diagnosis. *Mayo Clin Proc* 50: 571-572, 1975
4. Grunze H. The comparative diagnostic accuracy, efficiency and specificity of cytologic techniques used in the diagnosis of malignant neoplasms in serous effusions of pleural and pericardial cavities. *Acta Cytol* 8: 150-159, 1964
5. Kwee W-S, Veldhuizen RW, Alons CA, Morawetz F, Boon ME. Quantitative and qualitative difference between benign and malignant mesothelial cells in pleural fluid. *Acta Cytol* 26: 401-406, 1982
6. Paddock FK. The diagnostic significance of serous fluids in disease. *Engl J Med* 223:1010-1015, 1940
7. Coe JE, Aikawa JK. Cholesterol pleural effusion. *Arch Int Med* 108:163-174, 1961
8. Melamed MR. The cytological presentation of malignant lymphomas and related disease in effusions. *Cancer* 16:413-431, 1963