
장액성 삼출액내 반응성 증피세포와 암종세포간의 감별진단에서 calretinin의 유용성

성균관대학교 의과대학 마산삼성병원 해부병리과

김 병 현

= Abstract =

Utility of Calretinin in Distinction between Benign Reactive Mesothelial and Carcinoma Cells in Serous Effusions

Byung Heon Kim, M.D.

Department of Anatomic Pathology, Masan Samsung Hospital,
Sungkyunkwan University School of Medicine, Masan, Korea

The cytological distinction of carcinoma cells from reactive mesothelial cells in serous effusions may be difficult or impossible based on morphology alone, especially in specimens containing reactive mesothelial cells which form glandular or ball- or papillary-shaped conglomerates or which mimic malignant nuclear features. Calretinin is a newly reported immunocytochemical marker for mesothelial cells, which can potentially be utilized for facilitating this distinction. This study evaluated the usefulness of calretinin for the discrimination between reactive mesothelial and metastatic carcinoma cells in serous effusion. Immunocytochemical staining was undertaken on 33 benign reactive and 87 malignant serous effusion specimens with histologically confirmed diagnoses. The specimens including smears and cell blocks were stained with polyclonal antibody to calretinin by labelled streptavidin-biotin method. The positive expression of calretinin was noted in 32(97.0%) of 33 benign reactive effusions and 9(10.3%) of 87 malignant effusions. The sensitivity and specificity of the calretinin immunostaining for reactive mesothelial cells was 97.0% and 89.7%, respectively. In conclusion, calretinin is a useful marker for distinguishing between reactive mesothelial cells and carcinoma cells in serous effusions.

Key Words: Cytology, Effusion, Malignant, Calretinin, Immunocytochemistry

책임저자 : 김병현

주 소 : 경남 마산시 회원구 합성2동 50번지, 우편번호 630-522, 성균관대 마산삼성병원 해부병리과

전 화 : 055-290-6108

팩 스 : 055-290-6388

E-mail address: pathbh@unitel.co.kr

서 론

장액성 삼출액의 세포학적 검사는 통상적인 Papanicolaou(Pap) 염색 또는 hematoxylin-eosin(H-E) 염색에 의해 대부분 용이하게 진단되나 반응성 중피세포, 특히 선상, 구상 혹은 유두상 집합체를 형성하여 암종 구조물과 유사하거나 변성 혹은 화생에 의해 핵이 암종세포의 핵과 유사한 소견을 보이는 중피세포가 포함되어 있으면 형태학적 판정기준만으로 반응성 중피세포와 암종세포간에 감별진단이 어려우며, 때로는 불가능할 수도 있다.¹⁻³⁾ 이러한 경우 세포형태학적 소견에 추가하여 세포화학적 염색 및 면역세포화학적 염색, 유세포측정 및 전자현미경적 검색 등 여러가지 보조적인 기술을 이용하면 진단의 정확도를 높일 수 있으나 반응성 중피세포나 암종세포만을 증명할 수 있는 유일한 방법은 현재까지 없는 것으로 알려져 있다. 이러한 보조수단 중 면역세포화학법이 가장 널리 이용되고 있지만 상품화된 면역항체의 대부분은 암종세포와 관련이 있는 면역표지자이며, 암종세포에 대한 감수성과 특이성이 다양하여 여러 가지 항체를 동시에 이용한 염색 결과를 비교 검토해야 하는 단점이 있다. 한편 중피세포를 확인할 수 있는 면역항체는 종류가 적어 쉽게 이용할 수 없으며 또한 재현성이 일정하지 않고 감수성과 특이성이 제한되어 있다.^{4,6)}

최근에 정상, 반응성 및 종양성 중피세포에는 높은 감수성과 특이성을 나타내고, 원발성 및 전이성 암종에서는 감수성이 매우 낮은 새로운 면역항체인 calretinin이 개발되어 조직 및 세포검체에 이용한 연구 결과, 중피계열 세포와 암종세포간의 감별진단에 매우 유용한 면역표지자로 알려져 추천되고 있다.^{2,3,7-12)} 그러나 세포학적 검사에서 calretinin 양성율이 반응성 중피세포에서 27~100%^{1,3,5,7-9)} 그리고 암종세포에서 0~31%^{1,3,5,7-9)}로 보고자들 간에 차이가 있어 calretinin의 유용성에 대해 다소 논란이 있다.

이에 저자는 체강에서 채취된 장액성 삼출액의 세포병리학적 검사에서 중피계열 세포에 선택적 면역표지자로 추천되고 있는 calretinin이 반응성 중피세포와 암종세포의 감별에 어느 정도 유용성이 있는지를 알아보기 위해 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 연구재료

1999년 7월 1일부터 2001년 6월 30일까지 2년간 성균관대학교 의과대학 마산삼성병원 해부병리과에 의뢰된 흉강, 심낭 및 복강 삼출액의 세포학적 검사에서 분명한 암종세포로 진단된 140명의 환자 중 조직생검 또는 종양 절제를 통하여 원발병소가 확인되고, 원발부위의 조직학적 진단과 세포도말 표본의 세포학적 진단이 일치하고 연구에 적합한 세포도말 슬라이드가 2장 이상 혹은 세포블록이 보존되어 있었던 87예와 세포병리학적 소견 및 임상기록을 철저히 조사한 결과 악성 질환을 발견할 수 없어 양성 반응성 질환으로 증명되었던 33예의 세포도말 혹은 세포블록을 연구대상으로 하였다. 양성 질환으로 판명된 환자 중에 충분한 반응성 중피세포를 포함하는 장액성 삼출액은 흉강 삼출액 16예, 복강삼출액 17예였고 악성 삼출액은 흉강삼출액 45예, 심낭삼출액 4예, 복강삼출액 38예로 구성되었다. 한 예의 환자에서 연속적으로 두 번 이상의 천자에 의해 채취된 검체는 Pap 염색을 시행한 세포도말 슬라이드를 검정한 후 본 연구에 가장 적합한 1예를 선택하였다. 장액성 삼출액은 모두 임상 의의 천자로 얻어졌으며 그 중 11예는 천자 즉시 임상 의의 3장 내지 5장의 슬라이드에 도말하여 95% 알코올에 고정된 상태로 해부병리과로 의뢰되었고, 76예는 천자된 삼출액 전량을 의뢰 받아 5분간 1500 rpm으로 원심 분리과정을 거친 후 검체의 양에 따라 2장 내지 5장의 세포도말 슬라이드를 제작하여 젖은 상태에서 즉시 95% 알코올에 30분 이상 고정한 후 통상적인 방법에 의하여 Pap 염색을, 그리고 잔여물은 세포블록 절편을 제작하여 H-E 염색을 시행하였다. 반응성 삼출액 33예는 모두 충분한 양의 검체였기 때문에 5장의 세포도말 슬라이드와 세포블록 절편을 얻을 수 있었으며 이들은 모두 암종성 삼출액과 같은 과정을 거쳐 염색을 시행하였다. Pap 염색을 시행한 세포도말 슬라이드와 H-E 염색을 한 세포블록 절편 슬라이드의 판독은 2명의 병리 의사가 모든 슬라이드를 광학현미경하에서 통상적인 반응성 중피세포와 암종세포의 판정기준²⁾에 따라 재검토하였다.

2. 연구방법

1) 임상 및 병리학적 검색

연구대상 환자의 임상병력지와 병리보고서를 재검토하여 체강내로 전이한 암종은 연령, 성별 및 원발부

위를 조사하였고, 그리고 양성 반응성 장액성 삼출액은 기존 질환 등을 면밀히 조사하였다. 장액성 삼출액은 진단에 필요한 경우는 periodic acid-Schiff(PAS)와 alcian blue 염색 등 세포화학적 염색과 cytokeratin, epithelial membrane antigen(EMA), carcinoembryonic antigen(CEA), leukocyte common antigen, chromogranin A, synaptophysin, estrogen 수용체, progesterone 수용체, thyroglobulin, prostate specific antigen, CD56 및 S-100 단백 항체를 이용한 면역세포화학적 염색을 시행하였다.

2) 면역세포화학적 염색

면역세포화학적 염색은 암종성 삼출액 87예 중 Pap 염색이 이미 시행된 11예는 세포도말 슬라이드는 자일렌에 담귀 봉입물질을 완전히 제거한 후 탈색하지 않은 상태로 면역염색을 시행하였다. 세포블록이 제작된 양성 장액성 삼출액 33예와 암종성 삼출액 76예는 파라핀 포매피를 4 μm 두께로 박절하여 탈파라핀 과정을 거친 후 면역염색을 시행하였다. 면역세포화학적 염색은 도말슬라이드와 파라핀에 포매된 세포블록 절편 슬라이드에 labelled streptoavidin-biotin(LASB) 방법을 이용하였다. 일차항체는 rabbit anti-calretinin (polyclonal, prediluted, Zymed, South San Francisco, CA)을 사용하였다. 일차 항체와 이후의 과정은 LSAB kit2 (DAKO, USA)를 사용하였다. 염색 방법은 준비된 세포도말 및 세포블록 절편슬라이드는 phosphate-buffered saline(PBS)을 거쳐 내인성 과산화수소의 활성을 억제하기 위해 3% hydrogen peroxide-methanol에 5분간 처리 후 증류수로 세척하였다. 그 후 PBS에 10분간 처리 후 실온에서 30분간 일차항체와 반응시켰다. 그 다음 biotin이 부착된 이차항체에 10분 동안 실온에서 반응시키고 PBS로 수세한 후 streptavidin-alkaline peroxidase에 10분 동안 반응시킨 다음 10분간 PBS로 수세하였다.

amino-ethylcarbazole (AEC)를 10분간 도포하여 발색하고 Meyer's hematoxylin으로 대조염색 후 봉입하였다.

3) 면역세포화학적 염색 결과의 판정

면역염색의 분포와 강도는 두 명의 병리전문의가 임상정보, 조직소견 및 세포소견을 모르는 상태에서 판독하였으며, calretinin 단백 염색의 양성과 음성의

판단 기준은 반응성 중피세포와 암종세포의 세포막, 세포질 혹은 핵에 발현하는 세포가 전체 세포의 10% 미만인 경우는 - (음성), 10% 이상 25% 미만인 경우 +, 25% 이상 50% 미만인 경우 ++, 50% 이상인 경우 +++의 반정량적 판정으로 발현정도를 구별하였다.

4) 통계학적 분석

통계학적 분석은 Fisher's exact test를 이용하여 중피세포와 전이성 암종세포간에서 calretinin 단백 발현의 차이에 대한 유의성을 조사하였다. p 값이 0.05 이하일 때 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 임상 및 병리학적 소견(Table 1)

신체 여러장기에서 발생한 암종으로부터 늑막강, 심낭 및 복강 내로 전이한 암종 87예에서 연령은 17세에서 80세까지이고 평균연령은 60세였다. 남녀비는 1:1.1(41:46)이었으며, 남자 41예의 평균연령은 62세이며, 여자 46예의 평균연령은 58세로 남자에서 다소 높았다. 연령에 따른 발생빈도는 60대에서 29예(33.3%)로 가장 빈발하였고, 그 다음 70대 22예(25.3%), 50대 17예(19.5%), 40대 10예(11.5%), 30대 7예(8.1%), 80대 1예(1.2%) 및 10대 1예(1.2%)의 순이었다. 연령에 따른 발생빈도는 50대, 60대 및 80대가 주종을 이루었다. 악성 삼출액의 원발부위는 폐암종 36예(41.4%), 위선암종 23예(26.4%), 대장선암종 8예(9.2%), 간암종 7예(8.1%), 난소암종 6예(6.9%), 췌장선암종 2예(2.3%), 총담관선암종 1예(1.2%), 부신피질 암종 1예(1.2%), 방광암종 1예(1.2%), 자궁경부암종 1예(1.2%) 및 자궁내막암종 1예(1.2%) 등으로 폐암종이 가장 높은 발생빈도를 보였고 그 다음 위선암종이었다. 조직학적 유형에 따른 발생빈도는 선암종 76예(87.4%), 소세포암종 4예(4.6%), 편평세포암종 3예(3.5%), 간세포암종 3예(3.5%) 그리고 이행세포암종 1예(1.2%)로 선암종이 가장 높았다.

2. 면역세포화학적 소견(Table 1)

Calretinin 항체에 대한 양성 반응성 삼출액의 발현

Table 1. Results of Immunocytochemical Stainings by Calretinin and CEA in Benign Reactive and Malignant Serous Effusions

Cytological Diagnosis	Calretinin Positivity*		CEA Positivity†	
	Carcinoma	Mesothelial Cell	Carcinoma	Mesothelial cell
Reactive mesothelial cells		32/33		0/33
Pulmonary carcinoma	2/36		16/36	
Adenocarcinoma	2/30		16/30	
Squamous cell carcinoma	0/2		0/2	
Small cell carcinoma	0/4		0/4	
Gastric adenocarcinoma	2/23		15/23	
Colonic adenocarcinoma	2/8		4/8	
Hepatic carcinoma	1/7		3/7	
Cholangiocarcinoma	0/4		3/4	
Hepatocellular carcinoma	1/3		0/3	
Common bile duct adenocarcinoma	1/1		1/1	
Pancreatic adenocarcinoma	1/2		1/2	
Adrenal cortical carcinoma	0/1		0/1	
Urinary bladder transitional cell carcinoma	0/1		0/1	
Ovarian adenocarcinoma	0/6		4/6	
Uterine cervical squamous cell carcinoma	0/1		0/1	
Endometrial adenocarcinoma	0/1		0/1	
Total	9/87(10.3%)	32/33(97.0%)	44/87(50.6%)	0/33(0%)

*: $p < 0.001$, † : $p < 0.001$.

CEA: carcinoembryonic antigen

은 총 33예 중 32예(97.0%)에서 양성이었다고 1예(3%)에서 음성이었다. 양성을 나타내는 반응성 중피세포는 대부분이 세포질과 세포막에 중등도로 혹은 강하게 발현하였다(Fig. 1A). 양성인 32예 중 18예(56.3%)에서 일부 반응성 중피세포는 핵과 세포질에 양성을 나타내고 동시에 세포막에 더욱 뚜렷한 막성 발현을 하여 구운 계란 양상을 나타냈다(Fig. 1B). 집락 혹은 다핵을 형성하는 반응성 중피세포는 세포질, 세포막 혹은 핵에 중등도 혹은 강양성으로 발현하였다. 배경에 있는 대식세포, 다핵 백혈구 및 단핵구는 음성이었다. Calretinin 항체에 대한 악성 삼출액의 발현은 87예 중 9예(10.3%)에서 양성이었다고, 양성인 9예는 모두 약양성이었다. 그리고 78예(89.7%)에서 음성이었다(Fig. 2). 양성 반응을 보인 악성세포는 세포질 혹은 세포막에 국소적으로 약양성의 점상 혹은 가는 섬유상으로 발현하였고 핵에는 발현하지 않았다. 암종세포의 배경

에 산재해 있거나 집락 혹은 다핵을 나타내는 반응성 중피세포는 세포질, 세포막 혹은 핵에 중등도 혹은 강양성으로 발현하였다. 33예의 양성 장액성 삼출액에서 반응성 중피세포의 감수성은 97.0%이었고, 87예의 악성 장액성 삼출액에서 암종세포의 감수성은 10.3%로 calretinin에 대한 반응성 중피세포와 암종세포의 발현율은 통계학적으로 매우 유의한 상관관계를 나타냈고($p < 0.001$), 암종세포에 대한 반응성 중피세포의 특이성은 89.7%였다. 장액성 삼출액에서 암종세포의 확인을 위해 시행한 CEA 항체에 대한 양성 반응성 삼출액의 발현은 33예 모두 음성(0%)이었고, 악성 삼출액의 발현은 87예 중 44예(50.6%)에서 양성으로 CEA에 대한 반응성 중피세포와 암종세포의 발현율은 통계학적으로 유의한 상관관계를 보였다($p < 0.001$). 반응성 중피세포에 대한 암종세포의 특이성은 100%였다. 악성 장액성 삼출액에서 CEA 양성인 44예는

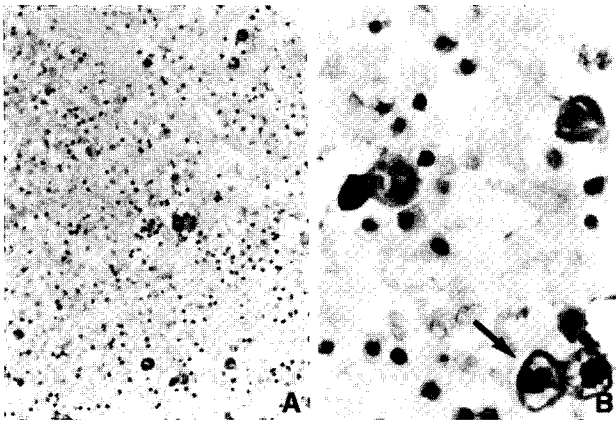


Fig. 1. Immunocytochemical staining of reactive mesothelial cells for calretinin: (A) Reactive mesothelial cells are strongly positive. Lymphocytes and monocytes in the background are negative. (B) Reactive mesothelial cells show strong membranous, cytoplasmic and nuclear immunoreactivity. Two reactive mesothelial cells reveal characteristic "fried egg" pattern(arrow). Lymphocytes and monocytes in background are negative.

calretinin 면역염색에서 모두 음성이었고, CEA 음성인 43예 중 대장 선암종 2예에서 세포질과 세포막에 국소적으로 점상 혹은 가는 점유상의 calretinin 양성 반응을 나타냈다.

고찰

Calretinin은 29-kDa의 칼슘결합단백이며, S-100 단백질과 같이 EF-hand 가족군에 속한다.¹³⁾ 이 단백질은 정상적인 중추 및 말초신경조직, 특히 망막과 감각경로의 신경세포에서 풍부하게 발현하는 것으로 처음 기술되었다.¹⁴⁾ Calretinin 유전자는 닭의 망막신경세포에서 cDNA 클론으로 처음 분리되었으며 calbindin 유전자와 60%에서 상동성을 갖는다.^{13,15)} 이후 지방세포, 방추형 근육, 신장의 곡세뇨관, 한선, Leydig 세포와 Sertoli 세포, 흉선의 각화상피세포 및 중피세포 등 일부 정상적인 비신경성세포^{9,16)}와 다양한 장기에서 기원한 암종의 일부^{9,10)}에서 발현하는 것이 증명되었다. Calretinin의 기능은 신경세포내에서 칼슘이온의 평형 유지,¹⁴⁾ 신체감각전달 및 방어기능을 담당하며,^{14,16)} 종양세포에서 세포주기의 진행을 조절하여 세포고사를 억제하는 역할을 하는 것으로 추정하고 있으나¹⁷⁾ 정상 및 종양세포에서 정확한 기능과 발현의 생물학적인 의의는 확실하게 규명되어 있지 않다.

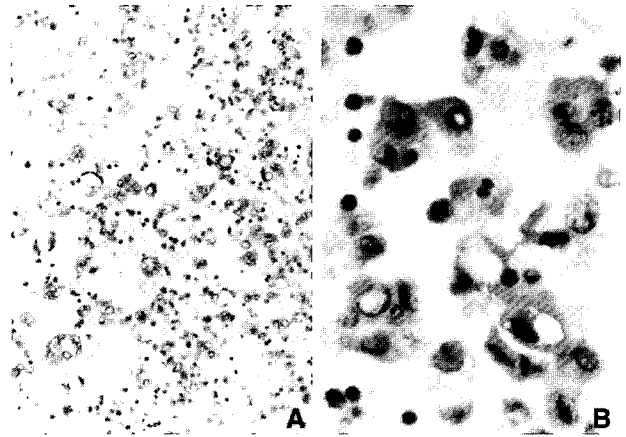


Fig. 2. Immunohistochemical staining of metastatic adenocarcinomatous cells for calretinin: (A and B) Individual or clustered carcinoma cells are negative. Lymphocytes in background are also negative.

장액성 삼출액에서 반응성 중피세포와 암종세포에 대한 calretinin 양성율은 반응성 중피세포에서 27~100%,^{1,3,5,7,9)} 그리고 암종세포에서 0~31%^{1,3,5,7,9)}로 보고자들 사이에 차이가 있어 calretinin의 유용성에 대해 상반된 견해가 있으나 다른 상피성 면역표지자의 면역염색 결과와 연계하여 비교 검토하면 양자간의 감별진단에 유용한 보조수단으로 가치가 있는 것으로 인정되고 있다. 본 연구에서 반응성 중피세포에 대한 calretinin 양성율은 97%로 매우 높았으며 이 결과는 대부분의 연구자의 결과와 유사하거나^{7,9)} 다소 높았으나^{1,3)} Simsir 등⁵⁾의 27% 보다는 훨씬 높았다. 본 연구 결과에서 암종세포에 대한 calretinin 양성율은 10.3%로 Sato 등³⁾의 결과와 유사하였으나 보고에 따라서는 암종세포에 염색된 예가 없었다고 한 반면^{8,9,12)} 일부 연구자는 23~38%로 양성율을 높게 보고한 연구자도 있어^{1,4,5,18)} 결과는 매우 다양하다. 본 연구에서 반응성 중피세포의 감수성은 97%이고 암종세포에 대한 반응성 중피세포의 특이성은 89.7%로 양자 모두 상당히 높아 calretinin이 반응성 중피세포와 암종세포의 감별에 매우 유용한 면역표지자임을 지지하는 다른 연구자들^{3,7-9)}의 결과와 일치하였다. 장액성 삼출액의 반응성 중피세포와 암종세포에서 calretinin 양성율이 보고자들 간에 차이가 나는 것은 검체의 유형(세포원침, 세포절편 및 조직절편), 고정방법(알콜, 포르마린 및 공기 건조), 검체의 전처리(trypsin 혹은 열처리), 이용한 항체의 종류, 항원복구 방법, 부관시간, 면역과산화소법, 관찰 증례수 및 기관마다 감수성 등의 차이에

따른 것으로 해석되고 있다.^{4,5,7,8,19)}

선행 연구^{7,8,12)}에서 calretinin 면역염색에 대한 강도와 분포를 살펴보면, 반응성 중피세포는 세포질에 중등도 혹은 강양성의 발현과 세포막에 강한 막성 발현을 하고 핵에서도 흔히 중등도 혹은 강한 발현을 하며, 암종세포는 대부분에서 음성이며 발현하더라도 세포질에만 약양성 혹은 드물게는 중등도의 양성을 나타내거나 반점 혹은 거친 과립상으로 발현하므로 발현강도와 분포 양상의 차이로 양자간에 감별이 가능하다고 하였다. 본 연구에서도 반응성 중피세포가 암종세포보다 훨씬 강하게 염색되고 핵에서 62.5% (20/32)가 발현되어 반응성 중피세포와 암종세포의 염색강도와 분포에 따라 양자를 감별할 수 있었으며, 특히 CEA 면역반응에 음성인 대장 선암종 2예에서 calretinin 양성 반응을 관찰하였으나 이 역시 점상 혹은 가는 섬유상으로 발현하여 반응성 중피세포의 양성 반응과 감별이 가능하여 이들의 견해에 동의한다. Kitazume 등⁸⁾과 Nagel 등⁷⁾은 악성 장액성 삼출액에서 암종세포 배경에 풍부하게 미만성으로 산재해 있는 반응성 중피세포는 물론이고, 소세포 집단과 증식에 의한 이종 혹은 다핵 중피세포에서도 역시 대부분 강양성을 나타내므로 음성이거나 국소적으로 약양성을 띄는 암종세포와의 감별에 도움을 받을 수 있다고 하였다. 본 연구의 결과에서도 암종세포의 배경에 산재하는 반응성 중피세포와 중피세포의 집락과 다핵 중피세포에서 강양성을 나타내므로 암종세포와 구별이 용이하여 Kitazume 등⁸⁾과 Nagel 등⁷⁾의 보고와 일치하였다. 그리고 Chhieng 등¹²⁾은 반응성 중피세포의 세포질과 핵에 미만성으로 발현을 하고 아울러 세포막에 더욱 강한 막성 발현을 하여 마치 구운 계란 양상을 나타내고 암종세포는 음성이거나 세포질내 국소적으로 점상 혹은 거친 과립상의 발현을 보이므로 반응성 중피세포와 암종세포를 감별할 수 있다고 하였다. 본 연구의 결과에서 calretinin 양성인 반응성 삼출액의 56.3% (18/32)에서 구운 계란 양상의 중피세포가 관찰되어 반응성 중피세포와 암종세포간의 감별에 염색반응의 특징적인 분포상이 도움을 준다는 Chhieng 등¹²⁾의 견해에 의견을 같이한다. 그러나 Nagel 등⁷⁾은 일부 반응성 중피세포에서 calretinin이 발현하지 않는 경우나 통상적인 세포학적 염색에서 형태학적으로 암종세포와 구별이 어려운 변성 혹은 과도하게 공포화되어 위인환세포(pseudo-signet ring cell) 모양을 나타내는 중피세포가 음성이어서 이들을 암종세포와 감별하기

위해서는 상피성 면역표지자로 확인할 필요성이 있다고 하였다. 본 연구의 결과에서 8예의 암종성 삼출액에서 암종세포 배경에, 그리고 4예의 양성 반응성 삼출액에서 반응성 중피세포의 배경에 위인환세포가 흩어져 있었다. 8예의 암종성 삼출액 중 3예에서 위인환세포는 calretinin 음성, 그리고 PAS 및 CEA 염색에 강양성이어서 암종세포로 판정하였고, 나머지 5예는 calretinin, PAS 및 CEA 염색에 모두 음성이어서 반응성 중피세포 혹은 대식세포로 간주하였다. 그리고 4예의 양성 반응성 삼출액에서 위인환세포는 calretinin, PAS 및 CEA 염색에 모두 음성이어서 반응성 중피세포 혹은 대식세포로 취급하였다. 양성 반응성 및 악성 삼출액에서 관찰되는 위인환세포가 calretinin, PAS 및 CEA 염색에 모두 음성일 경우는 암종세포, 중피세포 및 대식세포 간의 감별을 위해서 추가적인 면역항체를 이용하여 밝혀야 할 것으로 생각된다.

Barberis 등⁴⁾은 calretinin이 세포도말표본에서 항상 중피계열 세포의 세포질에서 발현하였으나 파라핀포매 세포블록 절편에서는 발현세포의 40%가 세포질과 핵에서 발현하는 것을 관찰하고, 핵에서 발현하는 이유에 대해 세포블록의 고정시 사용된 포르말린의 영향으로 세포질 혹은 세포막에서 탈락된 항원이 핵으로 이동되어 염색된 것으로 추정하였다. 도말슬라이드와 세포블록 제작시 알코올을 고정액으로 사용한 저자의 결과에서 calretinin 양성인 32예의 반응성 중피세포는 도말슬라이드 5예와 세포블록 15예로 양자 모두에서 중등도 혹은 강한 핵발현을 보여 포르말린 고정액에 의한 항원 탈락으로 calretinin이 핵에서 발현되는 것으로 추정하는 Barberis 등⁴⁾의 보고를 지지할 수 없었다. Calretinin이 반응성 중피세포의 핵에 발현하는 정확한 기전은 본 연구의 결과만으로 정확히 알 수 없어 추후 연구에 의해 밝혀져야 할 것으로 생각한다.

결 론

저자는 1999년 7월 1일부터 2001년 6월 30일까지 2년간 성균관대 마산삼성병원 해부병리과에 의뢰된 장액성 삼출액 중 양성 반응성 질환으로 밝혀진 양성 장액성 삼출액 33예와 조직학적으로 원발병소가 확인된 악성 장액성 삼출액 87예를 대상으로 calretinin 항체에 대한 면역세포화학염색을 시행하여 반응성 중피세포와 암종세포의 감별에 대한 유용성과 중피세

포의 감수성과 특이성을 검색한 결과를 요약하면 다음과 같다.

87예의 악성 장액성 삼출액에서 암종세포의 감수성은 10.3%이고, 33예의 양성 장액성 삼출액에서 반응성 중피세포의 감수성은 97.0%로 양자간의 발현율은 통계학적으로 유의성이 있었으며, 암종세포에 대한 반응성 중피세포의 특이성은 89.7%였다. 이상의 결과 중피세포에 대한 calretinin의 감수성과 특이성이 높아 반응성 중피세포와 암종세포간의 감별진단에 매우 유용한 면역표지자로 생각한다.

참 고 문 헌

1. Lozano MD, Panizo A, Toledo GR, Sola JJ, Pardo-Mindan J: Immunocytochemistry in the differential diagnosis of serous effusions: a comparative evaluation of eight monoclonal antibodies in Papanicolaou stained smears. *Cancer* 93:68-72, 2001
2. Bedrossian CW: Diagnostic problems in serous effusions. *Diagn Cytopathol* 19:131-137, 1998
3. Sato S, Okamoto S, Ito K, Konno R, Yajima A: Differential diagnosis of mesothelial and ovarian cancer cells in ascites by immunocytochemistry using Ber-ER4 and calretinin. *Acta Cytol* 44:485-488, 2000
4. Barberis MCP, Faleri M, Veronese S, Casadio C, Viale G: A selective marker of normal and neoplastic mesothelial cells in serous effusions. *Acta Cytol* 41:1757-61, 1997
5. Simsir A, Fetsch P, Mehta D, Zakowski M, Abati A: E-cadherin, N-cadherin, and calretinin in pleural effusions: the good, the bad, the worthless. *Diagn Cytopathol* 20:125-30, 1999
6. Cury PM, Butcher DN, Fisher C, Corrin B, Nicholson AG: Value of the mesothelium-associated antibodies thrombomodulin, cytokeratin 5/6, calretinin, and CD44H in distinguishing epithelioid pleural mesothelioma from adenocarcinoma metastatic to the pleura. *Mod Pathol* 13:107-112, 2000
7. Nagel H, Hemmerlein B, Ruschenburg I, Huppe K, Droese M: The value of anti-calretinin antibody in the differential diagnosis of normal and reactive mesothelia versus metastatic tumors in effusion cytology. *Pathol Res Pract* 194:759-764, 1998
8. Kitazume H, Kitamura K, Mukai K, et al.: Cytologic differential diagnosis among reactive mesothelial cells, malignant mesothelioma, and adenocarcinoma: utility of combined E-cadherin and calretinin immunostaining. *Cancer* 90:55-60, 2000
9. Doglioni C, Dei Tos AP, Laurino L, et al.: Calretinin: A novel immunocytochemical marker for mesothelioma. *Am J Surg Pathol* 20(9):1037-1046, 1996
10. Nelson G, Ordonez MD: Value of calretinin immunostaining in differentiating epithelial mesothelioma from lung adenocarcinoma. *Mod Pathol* 11:929-933, 1998
11. Leers MPG, Aarts MMJ, Theunissen PHMH: E-cadherin and calretinin: a useful combination of immunochemical markers for differentiation between mesothelioma and metastatic adenocarcinoma. *Histopathology* 32:209-216, 1998
12. Chhieng DC, Yee H, Schaefer D, et al.: Calretinin staining pattern aids in the differentiation of mesothelioma from adenocarcinoma in serous effusions. *Cancer* 90:194-200, 2000
13. Rogers JH: Calretinin: a gene for a novel calcium-binding protein expressed principally in neurons. *J Cell Biol* 105:1343-53, 1987
14. Carafoli E: Intracellular calcium homeostasis. *Ann Rev Biochem* 56:395-433, 1987
15. Rogers JH, Khan M, Elis J: Calretinin and other CaBPs in the nervous system. *Adv Exp Med Biol* 269:195-203, 1990
16. Gotzos V, Vogt P, Celio MR: The calcium binding protein calretinin is a selective marker for malignant pleural mesotheliomas of the epithelial type. *Pathol Res Pract* 192:37-147, 1996
17. Gotzos V, Schwaller B, Hetzel N, Bustos-Castillo M, Celio MR: Expression of the calcium binding protein calretinin in WiDr cells and its correlation to their cell cycle. *Exp Cell Res* 202:292-302, 1992
18. Wiczorek TJ, Krane JF: Diagnostic utility of calretinin immunohistochemistry in cytologic cell block preparations. *Cancer* 90:312-319, 2000
19. 김병헌: 점액 및 면역 세포화학적 panel 염색에 의한 장액성 삼출액내 반응성 중피세포와 암종세포의 감별. 대한 세포병리학회지 9:1-14, 1998