

## 자궁경부상피의 악성변화에서 비만세포가 간질세포의 $\alpha$ -Smooth Muscle Actin 발현에 미치는 영향

원광보건대학 임상병리과<sup>1</sup>, 원광보건대학 방사선과<sup>2</sup>, 충북대학병원 병리과<sup>3</sup>, 원광대학병원 병리과<sup>4</sup>

제갈승주<sup>1</sup>·최영자<sup>2</sup>·이광주<sup>3</sup>·노종섭<sup>4</sup>

### Mast Cells are Responsible for Expression of $\alpha$ -Smooth Muscle Actin in Stromal Cells of the Uterine Cervix during Epithelial Neoplastic Changes

Seung-Joo Jekal<sup>1</sup>, Young-Ja Choi<sup>2</sup>, Kwang-Joo Lee<sup>3</sup>, and Jong-Sup Roh<sup>4</sup>

*Department of Clinical Laboratory Science, Wonkwang Health Science College, Iksan, 570-750, Korea<sup>1</sup>*

*Department of Medical Radiation, Wonkwang Health Science College, Iksan, 570-750, Korea<sup>2</sup>*

*Department of pathology, Chungbuk National University Hospital, Cheongju, 361-711, Korea<sup>3</sup>*

*Department of pathology, Wonkwang University Hospital, Iksan, 570-711, Korea<sup>4</sup>*

There is increasing evidence that stromal reaction in cancer has an important diagnostic and prognostic significance. The aim of our study is to analyze the relation between the increase in mast cell number and the expression CD34 and alpha-smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) in the stroma of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and squamous cell carcinoma (SCC). We investigated a total of 29 CIN (1,2,3) and 21 SCC (microinvasive and invasive) specimens and compared the distribution of CD34<sup>+</sup> stromal cells,  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup> cells, transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1)<sup>+</sup> cells, and the density of mast cells using immunohistochemistry with antibodies against CD34,  $\alpha$ -SMA, TGF- $\beta$ 1, and c-Kit (CD117) respectively. Computerized image analysis was to evaluate the positive area (%) and density of the respective immunoreactive cells. In CIN CD34<sup>+</sup> cells were abundant in the stroma but no  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup> cells were identified except the wall of blood vessels. CD34<sup>+</sup> cells were progressively decreased along the continuum from CIN 2 to microinvasive SCC and not observed in the stroma of invasive SCC. Whereas  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup> cells were only observed in the stroma of microinvasive and invasive SCC. We found more intense TGF- $\beta$ 1 expression in the increased mast cells in the stroma of invasive SCCs than that in the stroma of CIN. These results indicate that disappearance of CD34<sup>+</sup> stromal cells and appearance of  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup> cells are associated with the stromal change of CIN to SCC and the transformation of CD34<sup>+</sup> stromal cells into  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup> cells is mediated by TGF- $\beta$ 1 secretions in the stromal mast cell of SCC.

---

**Key Words** : Cervical intraepithelial neoplasia, Squamous cell carcinoma, CD34,  $\alpha$ -SMA, Mast cell

## I. 서 론

비만세포는 알러지 및 염증성 질환과의 관련성 외에 종양을 대상으로 한 연구에서 종양의 간질이나 그 주변부에 많이 증가하며, 비만세포의 수적 증가가 암의 성장과 침윤 및 전이에 관련이 있다고 알려져 있다(Dabbous 등, 1986; Elpek 등, 2001; Jekal 등, 2005). 그러나 종양의 침윤 및 주위 조직으로의 확산에 있어 비만세포의 역할에 대해서는 아직 확실하게 규명되어 있지 않다. 최근 침윤암종에 대한 연구에서 정상 상피 및 간질 내에 널리 풍부하게 분포되어 있던 CD34-양성 간질세포(CD34<sup>+</sup> stromal cells: 이하 CD34<sup>+</sup>세포)가 암종세포의 간질 침윤이 시작되면서 사라지는 대신 정상 간질에는 존재하지 않던  $\alpha$ -smooth muscle antigen-양성 근섬유모세포( $\alpha$ -SMA<sup>+</sup> myofibroblast: 이하  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>세포)가 종양 간질과 그 주변부에 증가하며 암종 간질의 결합조직형성반응(desmoplastic reaction)에 관여하는 것으로 알려져 있다(Yen 등, 2002; Kuroda 등, 2005). 현재 침윤암종에서의 CD34<sup>+</sup>세포의 소실과  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>세포의 출현 기전에는 두 가지의 가정이 있다. 그 하나로 암종세포의 간질 침윤과정에서 CD34<sup>+</sup>세포가 자멸사(apoptosis)에 의해 제거된 후  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>세포로 대체된다는 가정(Katsenelson 등, 2001)과 다른 하나는 CD34<sup>+</sup>세포에서 CD34 발현이 억제되고  $\alpha$ -SMA-발현을 획득한다는 가정이다(Barth 등, 2002). 본 연구는 자궁경부상피내종양(CIN)의 진행과 침윤암종으로 발전하는 과정에서 간질에서의 CD34<sup>+</sup>세포와  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>세포의 변화, 두 세포 사이의 관련성 및 비만세포의 증가가 이들 세포에 미치는 영향을 조사하기 위하여 시도하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

본 실험에는 1999년부터 2006년까지 원광대학병원 병리과에 의뢰된 자궁경부 원추생검(cone biopsy)과 자궁절제술(hysterectomy)에 의해 적출된 조직 포매 블록 중 총 50건을 임의로 선별하여 사용하였다. 환자의 평균 연령은 평균 47세(27~72세)이었다. 선별된 조직은 다시 관찰하여

병변부위가 뚜렷하게 보존된 조직만을 골라 형태의 특징에 따라 자궁경부상피내종양(cervical intraepithelial neoplasia: CIN) 1등급(5건), CIN 2등급(14건), CIN 3등급(10건) 그리고 침윤성 편평상피암종을 다시 미소침윤암종(microinvasive carcinoma: MI)(7건)과 침윤암종(invasive carcinoma: IV)(14건)으로 나누어 총 6군으로 분류하였다. 모든 조직은 10% 중성완충포르말린에 고정된 것을 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) 면역조직화학적 염색

면역염색은 DAKO EnVision Kit를 사용하여 MicroProbe System(Fisher Scientific Co., USA)에서 수행하였다. 비만세포 마커로 c-Kit을, 기질 섬유세포 마커로 CD34 그리고 근섬유모세포 마커로  $\alpha$ -SMA를 사용하였다. 면역염색 과정을 간단히 요약하면 탈파라핀 후 흡수한 절편을 항원부활을 위해 c-Kit(CD117)은 pepsin에 넣어 45°C에서 4분간 두었으며, CD34는 10 mM Tris-EDTA buffer, pH 9.0에 넣어 microwave oven에서 15분간 가열하였고,  $\alpha$ -SMA는 항원부활과정 없이 진행하였다. 그 다음 0.3% hydrogen peroxide 에 옮겨 45°C에서 7분간 endogenous peroxidase를 차단한 후, 배경염색을 막기 위해 protein blocker(Zymed, USA)에 옮겨 45°C에서 5분간 둔 다음 각각 c-Kit(C-19, 1:200 희석; Santa Cruz), CD34(QBEend-10, 1:50희석; DAKO, Glostrup, Denmark),  $\alpha$ -SMA(1A4, 1:400 희석, DAKO, Glostrup, Denmark) 1차 항체에 넣어 냉장고에서 12시간 반응시켰다. 이어 2차 항체와 HRP polymer가 결합된 Dako REAL<sup>TM</sup> EnVision HRP Detection Kit(DAKO, Glostrup, Denmark)를 사용하여 45°C에서 15분간 반응시킨 다음 DAB(Dako, DAKO, Glostrup, Denmark)로 발색시켰다. 마지막으로 Mayer hematoxylin을 사용하여 대조염색한 후 알코올 탈수과정과 자일렌 탈파라핀 과정을 거친 후 permount로 봉입하였다. 각 단계마다 슬라이드는 Immuno/DNA buffer (Invitrogen, Carlsbad, USA)를 사용하여 수세하였다. 음성 대조로는 1차항체 대신 Immuno/DNA buffer를 사용하여 시행하였다.

2) TGF- $\beta$ -alcian blue 이중염색

비만세포에서 TGF- $\beta$  분비를 확인하기 위해 Dako EnVision Kit를 사용한 TGF- $\beta$  면역염색 후 alcian blue (pH 0.3)용액으로 대조염색하였다. 그 과정은 탈파라핀, 함수 과정을 거쳐 pepsin으로 항원부활을 한 후 0.3% hydrogen peroxide를 사용하여 endogenous peroxidase를 차단하고 배경염색을 막기 위해 protein blocker에 5분간 두었다가 TGF- $\beta$ (1:10희석) 1차항체에 옮겨 45°C에서 30분간 반응시켰다. 이어 Dako REAL™ EnVision HRP kit 사용하여 45°C에서 15분간 반응시킨 다음 DAB로 발색시킨 후 alcian blue(pH 0.3) 용액에 옮겨 실온에서 1시간 30분간 염색한 후 알코올 탈수와 자일렌 투명과정을 거쳐 permount로 봉입하였다.

3) 영상 분석

자궁경부 간질 내 출현하는 CD34<sup>+</sup>세포와  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>세포는 각 염색표본 내의 세포와 세포가 서로 뒤엉켜 출현하기 때문에 정량을 위하여 세포의 수 대신 단위면적당 각 세포의 분포면적 %를 구하였으며, 비만세포(c-Kit-양성)의 경우는 간질 1 mm<sup>2</sup> 당 평균 수를 구하여 각 군간 비교하였다. 영상분석을 위해서는 CCD 카메라(Thosiba U-CMAD-2, Japan)가 부착된 현미경(Olympus BX 50, Olympus Optical Lts., Japan) 아래에서 CD34<sup>+</sup>세포(x100)과  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>세포(x100) 그리고 c-Kit<sup>+</sup> 세포(x200)의 면역염색표본을 대상으로 정상조직과 CIN 병변은 상피 바로 밑 부분에서, 미소침윤암종과 침윤암종의 경우는 중

양 간질과 그 인접 주변부의 간질에서 영상을 획득하여 컴퓨터에 저장하였다. 저장된 영상은 분석 소프트웨어인 Image-Pro Plus ver 3.01(Media Cyberbetics Inc., USA)를 사용하여 측정하였다.

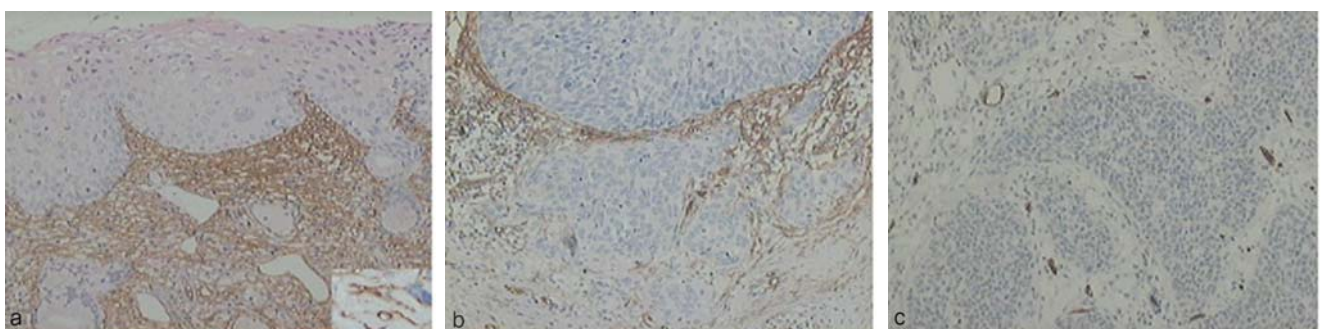
4) 통계분석

각 군간 통계학적 차이는 일원분산분석(on-way analysis of variance: ANOVA test)를 사용하여 조사하였고 p 값이 0.05 이하이면 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다. 분석에는 SPSS ver 10.0 프로그램을 사용하였다.

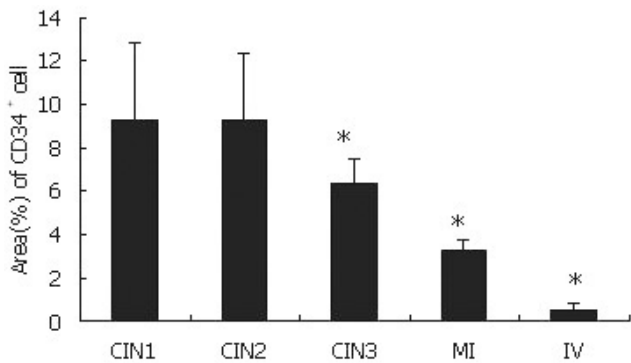
III. 결 과

1. CD34<sup>+</sup>세포의 분포 및 면적 %

CIN 1, 2, 3에서의 CD34<sup>+</sup>세포는 상피 밑과 혈관주위에서 현저하게 출현하였으며 밀집된 가는 그물모양을 형성하고 있었다(Fig. 1). CIN 등급과 관계없이 상피 밑이나 혈관으로부터 멀리 떨어질수록 CD34<sup>+</sup>세포의 밀도가 감소하였다. CIN 등급간 CD34<sup>+</sup>세포 면적 %를 측정한 결과 CIN 1과 CIN 2 사이에는 통계학적 의의가 없었으나 CIN 2에 CIN 3 군사이에서 통계학적으로 의의 있는 감소를 보였으며(p<0.05), 특히 CIN 3과 미소침윤암종 사이에서 통계학적으로 매우 의의 있는 감소를 나타내었다(p<0.01). 또한 미소침윤암종과 침윤암종 사이에서도 통



**Fig. 1.** Density of CD34<sup>+</sup> stromal cells in the stroma of Cervical intraepithelial neoplasia (CIN), microinvasive and invasive squamous cell carcinoma. CD34<sup>+</sup> stromal cells show long-dendrite-like projections(a, inset). The stroma adjacent to CIN 3 includes huge numbers of CD34<sup>+</sup>cell (a), whereas early stromal invasion by atypical cells shows a loss of CD34<sup>+</sup> cells (b). the stroma of invasive squamous cell carcinomas is free of CD34<sup>+</sup> cell except the wall of blood vessels (c).  $\times 100$ .

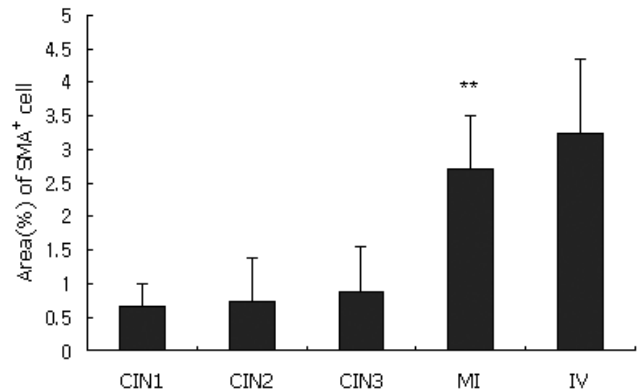


**Fig. 2.** Comparison of the area (%) of CD34<sup>+</sup> stromal cells in CIN and invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix.

계학적으로 의의 있게 감소하는 경향을 나타내었다 (p<0.05)(Fig. 2). CIN 경부조직의 상피 밑의 CD34<sup>+</sup>세포는 가늘고 긴 두 개 또는 여러 개의 나뭇가지모양의 세포질 돌기를 가지고 있으며 이웃해 있는 CD34<sup>+</sup>세포의 돌기와 연결된 모양을 나타내었다(Fig. 1a inset).

**2. α-SMA<sup>+</sup>세포 분포 및 면적 %**

CIN 경부조직 상피 밑 간질에서는 α-SMA<sup>+</sup>세포가 거의 출현하지 않았고 혈관 부위에서만 α-SMA 양성 시그널이 관찰되었다(Fig. 3). 그러나 종양세포가 기저막을 뚫고 간질부위로 침윤하기 시작하는 미소침윤암종에서는 통계학적으로 매우 의의 있는 증가를 보였으며(p<0.01), 이후 침윤성암종으로 진행되면서 약간의 수적 증가가 나

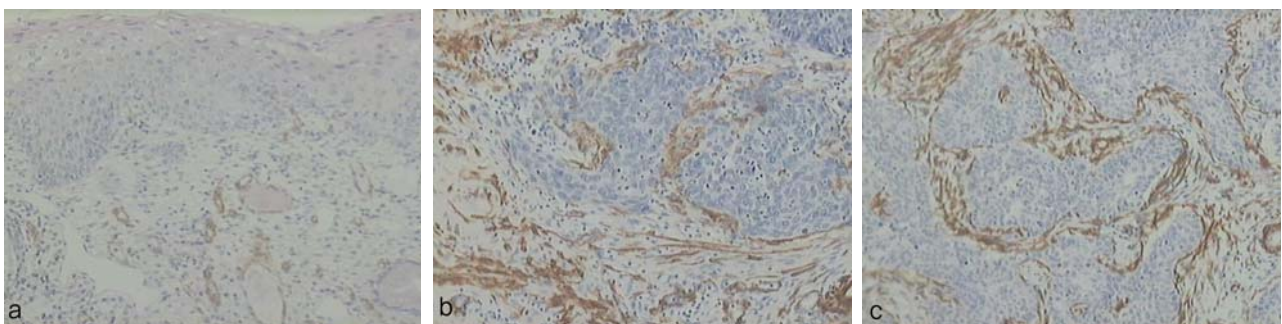


**Fig. 4.** Comparison of the area (%) of α-SMA<sup>+</sup> cells in CIN and invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix.

타나는 경향을 보이기는 하였으나 통계학적 의의는 없었다(Fig. 4). 침윤암종세포 간질이나 그 주변부에 출현하는 α-SMA<sup>+</sup>세포는 무질서하게 배열되어 있으며 세포의 모양은 방추형이고 두툽한 시가모양(cigar-shaped)의 핵과 특징적인 “tram-tracking” 모양의 세포질성 섬유로서 관찰되었다(Fig. 3b, 3c).

**3. 비만세포의 분포와 TGF-β1 양성세포**

CIN의 상피 밑이나 침윤암종의 간질의 c-Kit<sup>+</sup>비만세포는 난원형, 다각형 및 방추형으로 상피 기저막 밑의 간질 조직이나 종양세포 주변부의 혈관 가까이에 출현하였으며 과립형과 탈과립형의 두 형태로 관찰되었다(Fig. 5).



**Fig. 3.** Density of α-SMA<sup>+</sup> cells in the stroma of cervical intraepithelial neoplasia, microinvasive and invasive squamous cell carcinomas. The stroma adjacent to CIN 3 is free of α-SMA<sup>+</sup> cells except the wall of blood vessels (a), whereas the early stromal invasion by atypical cells shows an accumulation of haphazardly arranged α-SMA<sup>+</sup> cells (b). The stroma adjacent to invasive squamous cell carcinomas is surrounded by a huge numbers of α-SMA<sup>+</sup> cells (c). α-SMA<sup>+</sup> cells show plump cigar-shaped nuclei and a characteristic “tram-tracking” of α-SMA<sup>+</sup> intracytoplasmic fibers (b,c). ×100.

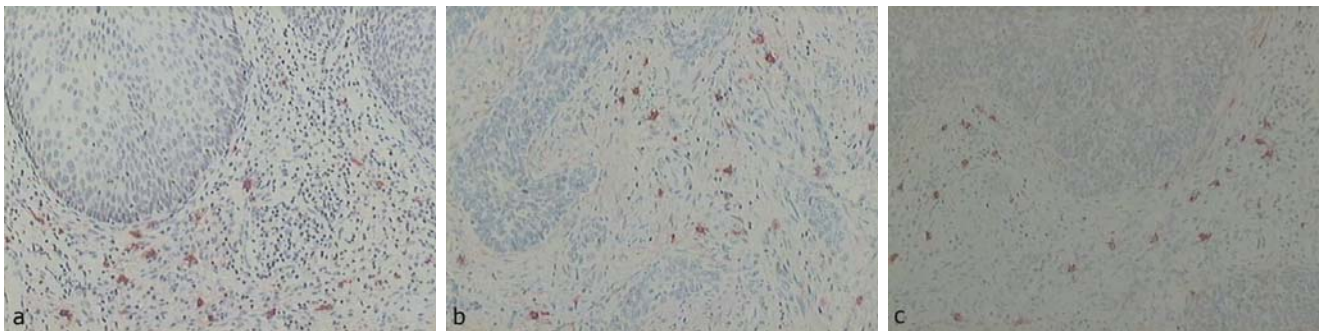


Fig. 5. Density of c-Kit<sup>+</sup> cell (mast cell) in the stroma of CIN 3, microinvasive and invasive squamous cell carcinomas. ×100.

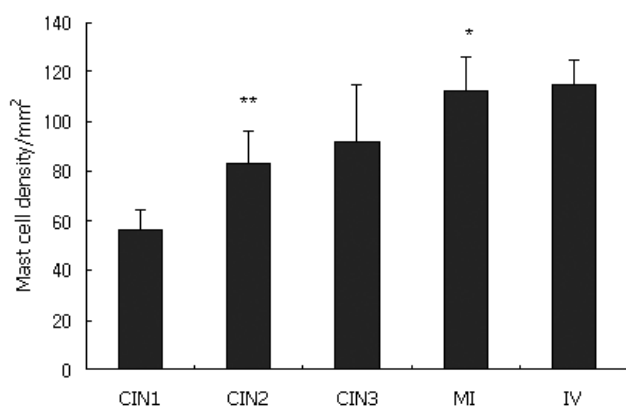


Fig. 6. Comparison of mast cell density in CIN, microinvasive and invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix.

1 mm<sup>2</sup> 당 비만세포 수는 CIN 1군과 CIN 2군 사이에 통계학적으로 매우 유의있게 증가하였으며(p<0.01) CIN 2와 CIN 3군 사이에는 평균 수의 증가하는 경향을 보였지만 통계학적 의의는 없었다(p=0.669). CIN 3군과 미소침윤암 사이에서는 통계학적으로 유의 있는 증가를 나타내었다(P<0.05). 그러나 미소침윤암과 침윤암중에서는 약간의 수적 증가 경향을 보였지만 통계학적으로 유의한 차이가 없었다(p=0.994)(Fig. 6). CD34<sup>+</sup>세포가 α-SMA<sup>+</sup>세포로 형질전환하는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 TGF-β1의 분비세포를 확인하기 위해 TGF-β1-alcian blue 이중염색을 한 결과 침윤암종의 종양세포와 종양주위 간질의 alcian blue 양성의 비만세포에서 TGF-β1 양성 시그널이 확인되었으며 특히 비만세포에서 TGF-β1 양성 시그널이 매우 강한 반응을 보여 종양주위 간질 비만세포가 TGF-β1의 주요 분비세포임을 확인 할 수 있었다(Fig. 7).

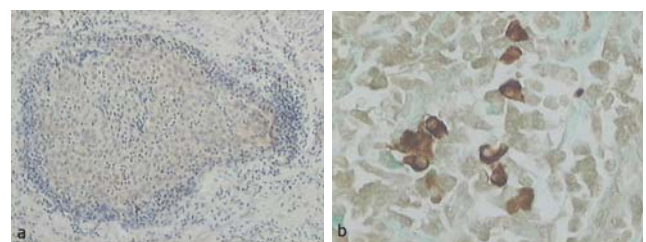


Fig. 7. TGF-β1<sup>+</sup> cells in the invasive squamous cell carcinoma. TGF-β1-positivity shows in tumor cells (a) and mast cells (b) adjacent to invasive squamous cells carcinoma. TGF-β1<sup>+</sup> mast cells resemble the morphology of c-Kit<sup>+</sup> cells as well as alcian blue positive by TGF-β1-alcian blue double staining. a:×100, b:×400.

#### IV. 고 찰

본 연구는 자궁경부상피내종양이 침윤암종으로 진행되는 과정에서 간질 내의 CD34<sup>+</sup>세포의 소실과 α-SMA<sup>+</sup>세포의 출현 그리고 두 세포의 변동 과정에서의 비만세포 증가가 어떤 역할을 할 것인가를 규명하기 위해 시도하였다. 실험 결과 간질 CD34<sup>+</sup>세포 분포면적은 CIN 1에서 CIN 2로 등급이 상승되면서 감소하였고 CIN 3에서는 CIN 2와 비슷한 분포면적을 유지하다가 미소침윤암종의 간질 내 침윤이 시작되면서 뚜렷하게 감소하였으며 침윤암종 간질에서는 거의 소실되어 관찰 할 수 없었다. 이에 반해 α-SMA<sup>+</sup>세포는 CIN의 간질에서는 거의 출현하지 않다가 미소침윤암종세포의 간질 내 침윤에 의한 CD34<sup>+</sup>세포의 소실과 함께 급격하게 증가하였으며 침윤암종에서도 증가 경향은 그대로 지속되었다.

침윤암종 간질에서의 CD34<sup>+</sup>세포의 소실에 대해서는 유

방암, 췌장암, 위암, 후두암, 대장결장암 등에서 보고되어 있다(Barth, 2002; Yen, 2002; Nakayama 등, 2002; Chauhan 등, 2003; Kojc 등, 2005; Kuroda 등, 2005). 더욱이 형태학적으로 양성과 악성의 구별이 쉽지 않은 양성의 경화성 선종증(sclerosing adenosis)에서 CD34<sup>+</sup>세포가 소실되지 않고 남아 있다는 보고(Barth 등, 2002)는 양성과 악성종양의 구별에 있어서 CD34<sup>+</sup>세포의 확인이 중요한 지표가 될 수 있음을 보여주고 있다. 이 결과는 CD34<sup>+</sup>세포의 소실 현상이 특정 침윤암종의 침윤 부위에 한정된 특이한 현상이 아니라 대부분의 침윤암종에서의 공통된 특징임을 알 수 있다. 본 자궁암종에서의 실험 결과 침윤암종 간질에서의 CD34<sup>+</sup>세포 소실과  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>세포의 축적은 이 현상이 자궁경부 침윤암종의 예민하고 특이적인 표지자가 될 수 있음을 보여주었다. 이것은 침윤암종 간질에서의  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>세포의 증식이 침윤암종의 진행을 악화시키는 결과를 의미한다. 이 같은 침윤암종과 관련된 간질의 면역표현형의 변화에는 두 가지 다른 기전이 관여하는 것으로 여기고 있다. 이 중 하나는 폐내분비종양세포 배양에서 배양상청액이 CD34<sup>+</sup>세포와 매우 밀접하게 관련되어 있는 것으로 알려져 있는 수지상 간질세포(interstitial cell)의 자멸사를 유도한 후  $\alpha$ -SMA를 발현하는 근섬유모세포로 대체된다는 것이다(Katsenelson, 2001). 그러나 *in vitro* 실험이 *in vivo*에서 그대로 적용될 지는 의문이다. 우리의 연구의 결과를 고려해 볼 때 기존의 CD34<sup>+</sup>세포가  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>세포로 형질전환되면서 동시에 CD34발현이 억제되는 것이 좀 더 타당한 가정으로 생각된다. 이 가정은 CD34와  $\alpha$ -SMA가 정확히 분리되어 발현되는 것이 아니고 CIN 3 가까이 상피 및 세포에서 동시에  $\alpha$ -SMA 발현과 CD34 억제가 일어난다는 실험 결과들과도 일치한다(Barth 등, 2002; Nimphius 등, 2007).

국소종양의 성장과 전신적 전이 과정에는 간질 기질의 분해와 그 후 간질 침윤이 결정적인 역할을 한다는 것은 잘 알려져 있다(Koukoulis, 1993; Brummer 등, 1999). CD34<sup>+</sup>세포는 I형과 III형 collagen 합성능력이 있어서 조직수복에 관여하며 간질 보존과 종양세포 이주를 억제하는데 중요한 역할을 할 뿐만 아니라 HLA-II 분자를 발현하며 항원전달세포(antigen presenting cells)로서 역할을 수행한다(Chesney 등, 1997). CD34<sup>+</sup>세포의 이 같은 특성은 종양항원에 대한 특이적인 숙주 면역반응에 관여함을

보여주는 것이다. 따라서 자궁경부의 침윤암종으로부터 CD34<sup>+</sup>세포가 사라지는 원인이 무엇인지를 규명하는 것이 매우 중요하다. 최근 후두와 후두인두 편평상피암종에서의 연구에서 정상 조직에 비해 암종세포에서 TGF- $\beta$ 1이 강하게 발현된다는 것과 정상 점막의 간질세포에서 TGF- $\beta$ 1 수용체가 강하게 발현되고 많은 근섬유모세포에서 TGF- $\beta$ 1와 TGF- $\beta$ 1 수용체가 발현된다는 것을 근거로 CD34<sup>+</sup>세포의 소실과  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>세포의 출현은 암종세포에서 TGF- $\beta$ 1의 과잉분비에 의해 CD34<sup>+</sup>세포가  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>세포로 형질전환되는 것으로 가정하였다(Kojc 등, 2005; Kuroda, 2005). 본 실험에서 TGF- $\beta$ 1-alcian blue 이중염색하여 본 결과 TGF- $\beta$ 1-양성 시그널은 CIN 조직에서는 아주 약하게 침윤암종세포에서 중등도 양성을 비만세포에서는 강한 반응을 보였다. 특히 침윤암종 간질에 출현하는 비만세포에서 강한 시그널을 관찰할 수 있어서 CIN에서 침윤암종으로 진행과정에서 비만세포의 수적 증가는 TGF- $\beta$ 1 분비의 가장 주요 세포로서 역할을 할 것으로 사료된다. 이는 암종 관련 간질 재구축(remodelling)에 있어서 TGF- $\beta$ 1이 CD34를 억제하고  $\alpha$ -SMA의 발현을 높이는 작용을 한다는 결과(Abe 등, 2001; Espana 등, 2004)와 일치하며, 적어도 일정 부분 c-kit(CD117)에 의해 매개되는 추가적인 성장조절 경로를 통한 도움이 있을 것이라는 가정을 뒷받침한다(Barth 등, 2004).

## 감사의 글

이 논문은 2006년 원광보건대학 연구비 지원에 의해 연구됨

## 참고 문헌

1. Abe R, Donnelly SC, Peng T, Bucala R, Metz CN. Peripheral blood fibrocytes: differentiation pathway and migration to wound sites. *J Immunol* 166:7556-7562, 2001.
2. Barth PJ, Ebrahimsade S, Ramaswamy A, Moll R. Cd34+ fibrocytes in invasive ductal carcinoma, ductal

- carcinoma in situ, and benign breast lesions. *Virchows Arch* 440:298-303, 2002.
3. Barth PJ, Ramaswamy A, Moll R. CD34+ fibrocytes in normal cervical stroma, cervical intraepithelial neoplasia III, and invasive squamous cell carcinoma of the cervix uteri. *Virchows Arch* 441:564-568, 2002.
  4. Barth PJ, Schenck zu Schweinsberg T, Ramaswamy A, Moll R. Cd34+ fibrocytes,  $\alpha$ -smooth muscle actin-positive myofibroblasts, and CD117 expression in the stroma of invasive squamous cell carcinomas of the oral cavity, pharynx, and larynx. *Virchow Arch* 444:231-234, 2004.
  5. Brummer O, Athar S, Reithdorf L, Loning T, Herbst H. Matrix-metalloproteinases 1, 2 and 3 and their tissue inhibitors 1 and 2 in benign and malignant breast lesions: an in situ hybridization study. *Virchow Arch* 435:566-573, 1999.
  6. Chauhan H, Abraham A, Philips JRA, Pringle JH, Walker RA, Jones JL. There is more than one kind of myofibroblast: analysis of CD34 expression in benign, in situ, and invasive breast lesions. *J Clin Pathol* 56:271-276, 2003.
  7. Chesney J, Bacher M, Bender A, Bucala R. The peripheral blood fibrocyte is a potent antigen-presenting cell capable of priming naive T cells in situ. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:6307-6312, 1997.
  8. Dabbous MK, Walker R, Haney L, Carter LM, Nicolson GL, Woolley DE. Mast cells and matrix at the sites of tumor invasion in rat mammary adenocarcinoma. *Br J Cancer* 54:459-465, 1986.
  9. Elpek O, Gelen T, Aksoy H, Erdogan A, Dertsiz L, Dermircan L, Keles N. The prognosis relevance of angiogenesis and mast cells in squamous cell carcinoma of the oesophagus. *J Clin Pathol* 54:940-944, 2001.
  10. Espana EM, Kawakita T, Liu CY, Tseng SC. CD-34 expression by cultured human keratinocytes is down-regulated during myofibroblast differentiation induced by TGF-beta. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45:2985-2991, 2004.
  11. Jekal SJ, Lee JA, Rho JS. Mast cells and vascular endothelial growth factor expression in neoangiogenesis of cervical intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinomas of the uterine cervix. *Korean J Clin Lab Sci* 37(3):197-206, 2005.
  12. Katsenelson NS, Shurin GV, Bykovskaia SN, Shogan J, Shurin MR. Human small cell lung carcinoma and carcinoid tumor regulate dendritic cell maturation and function. *Mod Pathol* 14:40-45, 2001.
  13. Kojc N, Zidar N, Vodopivec B, Gale N. Expression of CD34,  $\alpha$ -smooth muscle actin, and transforming growth factors beta 1 in squamous cell intraepithelial lesions and squamous cell carcinoma of the larynx and hypopharynx. *Hum Pathol* 36(1):16-21, 2005.
  14. Koukoulis GK, Howedy AA, Korhonen M, Virtanen I, Gould VE. Distribution of tenascin, cellular fibronectins and integrins in the normal, hyperplastic and neoplastic breast. *J Submicrosc Cytol Pathol* 25:285-295, 1993.
  15. Kuroda N, Jin Y-L, Hamuzu T, Toi M, Miyazaki E, Hiroi M, Moriki T, Enzan H. Consistent lack of CD34-positive stromal cells in the stroma of malignant breast lesions. *Histol Histopathol* 20:707-712, 2005.
  16. Kuroda N, Nakayama H, Miyazaki E, Toi M, Hiroi M, Enzan H. Distribution of CD34-positive stromal cells and myofibroblasts in colorectal carcinoid tumors. *Histol Histopathol* 20; 27-33, 2005.
  17. Nakayama H, Enzan H, Miyazaki E, Toi M. Alpha smooth muscle actin positive stromal cells in gastric carcinoma. *J Clin Pathol* 55(10):741-744, 2002.
  18. Nimphius W, Moll R, Olbert P, Ramaswamy A, Barth PJ. CD34+ fibrocytes in chronic and noninvasive and invasive urothelial carcinomas of the urinary bladder. *Virchows Arch* 450:179-185, 2007.
  19. Yen TW, Aardal NP, Bronner MP, Thorning DR, Savard CE, Lee SP, Bell RH. Myofibroblasts are responsible for the desmoplastic reaction surrounding human pancreatic carcinomas. *Surgery* 131(2):129-134, 2002.