

암의 병리학적 진단

계명대학교 의과대학 병리학교실

권 건 영

서 론

암은 완전히 퇴치될 수 있을 것인가? 이 물음에 아직은 확실하게 답을 내릴 수는 없다 그러나 전혀 불가능한 것으로 보지는 않는다 지금까지 많은 의학자들이 엄청난 투자를 하면서 암의 퇴치를 위해 연구를 계속하여 왔다 그 결과 현재 암의 정체는 상당히 밝혀지고 있으며, 임상에서는 암을 성확히 진단하게 되고, 적절한 치료를 하면서, 암을 적극적으로 예방하는 데 이르기까지 암정복을 위한 인간의 노력은 끊임없이 전개되고 있다.

암은 명확한 진단하에서 치료가 이루어져야 한다 암의 치료가 적절하게 되기 위해선 반드시 성확한 진단이 이루어져야 하며 이는 현재 병리학적 진단에 근거하고 있다¹⁾. 조직검사라고 널리 알려진 병리학적 검사가 확진을 위한 최선의 방법이다.

최근 암진단을 위한 다양한 검사 방법들이 소개되었고 활발히 임상에 적용되고 있다 이 방법들은 보다 복잡하고, 정교하며 전문화되고 있다 암의 종류에 따라서 보다 다양한 검사법들이 적용되면서 전남병리 영역에서도 적극 응용되고 있다²⁾ 암의 병리학적 진단은 크게 조직학적 검사와 세포학적 검사로 이루어진다 병리의사가 암조직을 현미경하에서 확인하거나 암세포를 찾아내면서 암을 진단하고 있다³⁾ 정확한 진단에 도달하는데는 판독하는 병리의사의 경험과 표본의 질적 우수성이 가장 중요한 요건이 된다 그리고 자세한 병력이 표본의 정확한 판독에 필수적이다

병력이 수반되지 않는 조직표본의 판독은 오진을 초래할 수 있다. 오진은 위양성과 위음성으로 구분

할 수 있으며 위양성은 절대 방지되어야 하고 위음성은 반복되는 세포학적검사 또는 생검으로서 확진에 도달시킬 수 있다⁴⁾. 전통적으로 암을 병리학적으로 진단하는 방법은 암환자로부터 절취한 조직을 이용하여 광학현미경적 색상을 실시하는 생검(biopsy)이 주가 되어 왔으며 이 방법은 앞으로도 병리학적 진단법의 근간이 될 수 있을 것이다¹⁾. 그리고 세포학적 검사의 적용과 함께 최근에 활발하게 시도되고 있는 각종 특수검사들이 암의 진단과 그 감별에 있어서 대단히 유용하게 사용되고 있다⁵⁾

따라서 여기서는 암의 병리학적 진단에 있어서 현재 널리 사용되고 있는 조직학적 검사와 세포학적 검사에 대해 기술하고 생검조직을 이용한 면역조직화학적 검사와 전사현미경적 검사방법에 대해 언급하며 최근 진단 병리 영역에서 적용되고 있는 몇가지의 새로운 진단법에 대해 간단히 제시하고자 한다.

암의 형태학적 진단 기준

어떤 종양이 양성종양인지 악성종양인가를 판정하는 것은 내단히 중요하다 양성 종양은 조직학적 및 세포학적으로 모조직과 매우 유사한 형태를 가진다 예를들면 지방종인 경우 그 종양이 성숙한 정상 지방세포들로 이루어져 있으며 섬유종인 경우 성숙한 섬유아세포와 교워성 기질로서 종양을 구성하고 있다 일반적으로 양성 종양일 경우 교원조직으로 구성된 편막에 의해 종양을 잘 둘러싸고 있으며 주변 조직으로 침윤하거나 전이하지 않는 특성이 있다⁶⁾ 악성 종양은 형태학적 면에서 그리고 기능적인 면에서 모조직과 다른 양상을 보여주고

있다 따라서 정확한 진단을 위해서는 종양이 위치한 장소와 조직학적 및 세포학적으로 모조지과 어느 정도 유사성을 가지는지를 관찰하여 판정한다

암세포의 가장 특징적인 소견으로 역형성(anaplasia)을 들 수 있다⁷⁾ 역형성은 암세포의 분화가 결핍된 것으로 역형성의 정도는 그 종양의 악성정도와 밀접한 관계를 갖는다 세포학적으로 역형성을 판정하는 기준은 종양세포의 크기와 모양의 다양성, 핵의 다형성(pleomorphism), 과염색성 거대핵, 띠은 과립상의 염색질, 뚜렷한 핵소체, 비정형 유사분열, 혐상꽃게 생긴 종양세포 및 거대종양세포 등을 들 수 있다(Fig 1). 비정형 유사분열이 많을 경우 악성종양을 판정하는데 중요한 기준이 될 수 있다. 특히 평활근육종의 경우 비정형 유사분열을 찾는 것은 진단에 상당히 도움을 준다 악성 종양은 혈장 또는 림프관의 침윤을 흔히 가진다 그러나 자궁경부의 상피내암종과 미소침윤성 편평상피 암종을 감별하거나 장관계의 선종성용종(adenomatous polyp)에서 생긴 암종을 판정하는 경우 국소적인 침윤이 감별에 중요한 기준이 된다^{b)}

신이성 병변에 있어서 암의 원발부위를 광학현미경상의 형태학적 소견만 가지고 정확하게 알아낸다는 것은 실지로 대단히 어려운 일이다 이때는 전자현미경적 검

색이나 특이한 종양표지 물질을 사용하므로서 원발 부위를 보다 쉽게 찾아낼 수 있다^{8,9)}

암의 형태학적 분류

모든 종양은 그것이 양성이든 악성이든 간에, 두 가지 기본성분 즉, 실질(parenchyma)과 간질(stroma)로 구성되어 있다 실질세포는 종양의 주성분이며 간질은 결체조직, 혈관 및 림프관으로 구성되어 지주적 역할을 한다 종양에 따라서 실질성분이 대부분을 차지할 경우 그 경도가 부드럽고 살코기같은 형태를 보여주나 간질조직의 양이 많은 경우에는 단단한 경도를 가져 경성(scirrhous)종양을 이룬다¹⁰⁾ 악성종양을 명명할 때 진엽에서 발생한 것을 육종(sarcoma)이라고 부르며, 상피세포에서 기원한 종양을 암종(carcinoma)이라고 한다 육종과 암종은 광학현미경적으로 관찰하여 표 1과 같이 분류할 수 있다 드물지 않게 악성종양이 극히 원시적이고 미분화된 세포로 구성되어 있어 암종인지 혹은 육종인지 구별이 불가능할 때에는 미분화 악성종양으로 진단하고 양자의 구별이 가능할 때는 미분화 암종 또는 미분화 육종이라고 진단한다.

Table 1 Classification of benign and malignant tumors(Cotran, Robbins pathologic basis of disease, 1989)

TISSUE OF ORIGIN	BENIGN	MALIGNANT
I Composed of one parenchymal cell type		
A. Tumors of mesenchymal origin		
(1) Connective tissue and derivatives	Fibroma Myxoma Lipoma Chondroma Osteoma	Fibrosarcoma Myxosarcoma Liposarcoma Chondrosarcoma Osteogenic sarcoma
(2) Endothelial and related tissues		
Blood vessels	Hemangioma Capillary Cavernous	Angiosarcoma
Lymph vessels	Lymphangioma	Lymphangiosarcoma
Synovia		Synovioma(synovial sarcoma)
Mesothelium (lining cells of body cavities)		Mesothelioma

Brain coverings	Meningioma	Invasive meningioma
Glomus	Glomus tumor	
(3) Blood cells and related cells		
Hematopoietic cells		Myelogenous leukemia
Lymphoid tissue		Monocytic leukemia Malignant lymphomas Lymphocytic(leukemia) Plasmacytoma(multiple myeloma)
Langerhans' cells		Histiocytosis X
Monocyte-macrophage		? Histiocytic lymphoma ? Hodgkin's disease
(4) Muscle		
Smooth muscle	Leiomyoma	Leiomyosarcoma
Striated	Rhabdomyoma	Rhabdomyosarcoma
B Tumors of epithelial origin		
(1) Stratified squamous	Squamous cell papilloma	Squamous cell or epidermoid carcinoma
(2) Basal cells of skin or adnexa		Basal cell carcinoma
(3) Skin adnexal glands		
Sweat glands	Sweat gland adenoma	Sweat gland carcinoma
Sebaceous glands	Sebaceous gland adenoma	Sebaceous gland carcinoma
(4) Epithelial lining		
Glands or ducts – well differentiated group	Adenoma	Adenocarcinoma
	Papilloma	Papillary carcinoma
	Papillary adenoma	Papillary adenocarcinoma
	Cystadenoma	Cystadenocarcinoma
Poorly differentiated group		Medullary carcinoma Undifferentiated carcinoma(simplex)
(5) Respiratory passages		Bronchogenic carcinoma
(6) Neuroectoderm	Nevus	Melanoma(melanocarcinoma)
(7) Renal epithelium	Renal tubular adenoma	Renal cell carcinoma(hypernephroma)
(8) Liver cells	Liver cell adenoma	Hepatoma(hepatocellular carcinoma)
(9) Bile duct	Bile duct adenoma	Bile duct carcinoma (cholangiocarcinoma)
(10) Urinary tract epithelium(transitional)	Transitional cell papilloma	Papillary carcinoma Transitional cell carcinoma Squamous cell carcinoma
(11) Placental epithelium	Hydatidiform mole	Choriocarcinoma

(12) Testicular epithelium(germ cells)

Seminoma

Embryonal carcinoma

II More than one neoplastic cell type—

**mixed tumors—usually derived from
one germ layer**

(1) Salivary glands

Pleomorphic adenoma Malignant mixed tumor of
(mixed tumor of salivary salivary gland origin
gland origin)

(2) Renal anlage

Wilms' tumor

III More than one neoplastic cell type derived

**from more than one germ layer—
teratogenous**

(1) Totipotential cells in gonads or
in embryonic rests

Mature teratoma Immature teratoma
Dermoid cyst

추어져야 한다¹²⁾**임의 병리학적 진단방법****1 조직학적 진단(Histologic Diagnosis)**

조직학적 진단을 하기 위해서는 암병소의 대표적인 부분을 색색하여야 한다. 종양의 괴사 부위나 비종양성 심유조직 또는 기관지암 주변의 이형성 부위(dysplastic area)에서 조직을 채취하면 암성 병변을 발견할 수 없게 된다. 특별한 경우 침침자 생김새가 이용되고 있으나 자질한 시료채취가 이루어지도록 숙련이 필요하다. 생검을 할 때 임상의사는 검사할 조직을 훼손하거나 선기적인 조작으로 옆에 의한 조직의 변성이 생기지 않도록 세심한 주의가 필요하며 검체를 신속히 고정함으로서 진단에 장해를 줄 수 있는 인공물(artifact)의 발생을 막을 수 있다¹⁰⁾.

조직검사를 판독하는 데 있어서 임상정보의 제공은 대단히 중요하나 정확한 조직학적 진단은 임상정보가 없이는 이루어질 수 없다. 예를 들면 세포된 조직들이 이루어질 경우 방사선치료로 인한 세포변성이 암으로 오진될 수 있으며, 같은상에 의한 수복성 변화는 유증으로 오진할 수도 있기 때문이다¹¹⁾.

임환자의 치료에 있어서 병리학적 진단은 필수적이며 따라서 대부분의 경우 조직 검사를 실시한다. 보다 정확한 진단을 위해 조직검사를 하는데 몇 가지의 요건이 갖

첫째, 조직의 판독(reading)과 진단(diagnosis)은 고도의 신분 지식과 경험을 필요로 하며 대부분의 경우 환자의 최종진단(final diagnosis)이 되기 때문에 신중하게 이루어져야 하고 진단한 사람은 그 진단을 결정한 데 대한 책임을 져야 한다.

둘째, 조직검사는 난순히 광학현미경으로 관찰하고 진단을 내리는 과정보다는 그 환자에 대한 여러 임상소견들을 모두 참조하면서 결정할 수 있는 최선의 판단(judgement)이라고 할 수 있다. 따라서 결정된 진단은 환자의 진료에 지결되므로 임상의사들은 최대의 임상정보를 병리의사에게 제공해 주어야 한다.

세째, 조직검사의 생명은 조직의 신선도(freshness)에 있으므로 환자에서 조직을 떼어낸 후에는 즉시 적절한 고정액(fixative)에 넣는 것이 중요하다.

현재 임의 진단에 사용되는 조직검사 방법은 다음과 같다.

가 진단적 생검(Diagnostic biopsy)

진단적 생검 목적으로 떼어내는 조직은 그 양이 적다. 따라서 자질한 생검장소의 선택이 중요하나 종양이 위치한 병변에서 가장 최근에 침범된 부위를 선택하되 괴사나 출혈이 없는 곳이어야 한다. 진단적 생검에는 다음과 같은 종류를 들 수 있다.

(1) 내시경적 생검(Endoscopic biopsy)

내시경술의 발달로 인해 현재 암을 진단하는 데 가장 널리 사용되는 진단술식 중의 하나이다 특히 위상관계, 비뇨기계 등의 암조직 검사에 있어서 손쉽고 빠르게 그리고 정확하게 진단할 수 있는 장점을 가진다(Fig 2). 내시경적 생검의 중요성은 무엇보다도 암의 조기발견에 있으며 검사때는 가장 의심되는 곳에서 조직을 떼어내며 조직에 손상을 주지 않도록 세심한 주의를 해야 된다. 검사조직의 크기가 한정되므로 내시경적으로 분명히 암으로 보이는 병변이 조직검사 결과에서는 단순위염 또는 궤양성 병변으로 진단되는 경우가 종종 있다. 이때는 대개 암의 주변 조직이나 궤양 부위의 표피가 없는 곳을 찾아 조직을 떼어내야 한다. 그리고 만일 내시경 소선과 조직진단이 상이한 경우에는 새취상소를 끊어서 재생검을 실시하는데 일정기간이 지난후 나서 재검사를 할 필요가 있다. 또한 생검이 적절한 장소에서 이루어졌더라도 광학현미경상에서 암세포들이 단지 몇개씩만 나타나는 경우 진단에 어려움을 가진다. 이때는 PAS(Periodic Acid Schiff) 염색이 많은 도움을 줄 수 있다. 우리나라에서 위암이 흔한 현실성에 위내시경의 보급화대와 내시경적 생검의 보편화로 조기위암의 발견율이 높아지고 있음은 위암의 조기치료를 위해서도 매우 나행스러운 일이다.

(2) 침생검(Needle biopsy)

피부를 통하여 침을 뛸려 넣어 암이 위치한 부위에 도달케 한 다음 침속에 암조직편이 묻히 나오게 하여 검사를 하는 것으로 오래전부터 암의 진단에 사용되어 왔다. 침생검은 암의 병소가 큼수록 진단하기 용이한 조직편을 얻을 수 있으나 식은 병소인 경우 암조직을 얻을 수 없는 경우가 있다.

그러나 최근 병시선기 기의 발달로 인해 식은 병소에서도 정확하게 침의 위치를 다나르게 한 다음 조직편을 채취할 수 있게 되었다. 침생검은 산 및 신장에서 흔히 이용되며 이외에도 흉마, 복막, 갑상신, 끝수 혹은 신립선 등의 종양 진단에도 이용된다(Fig 3). 위상에서 간암을 의심하는 경우에 진단한 침생검을 통하여 확진할 수 있으며, 선종성 갑상선종과 간상선암을 침생검으로 간별 진단이 가능하다. 림프절에 대한 침생검도 시도되고 있으나 아직은 진단적 가치가 높은 편이 아니다.

(3) 펀치 생검(Punch biopsy)

펀치생검은 각종 피부질환의 진단과 암이 호발하는 자궁경부 병변의 진단에 많은 도움을 주고 있다. 직경 4~5mm의 펀치기구를 통해 종양 조직을 떼어내는 것으로 채취한 조직편은 대체로 원추(cone) 모양의 형태를 정하고, 이것으로 진단하기 위한 조직 표본을 만들게 된다. 떼어낸 조직편의 크기가 작아 충분한 진단을 할 수 없을 경우에는 절개생검/incisional biopsy)을 필요로 한다. 자궁경부의 펀치생검으로 암을 의심하는 병변이 관찰될 때 원추생검(conization)을 통하여 더욱 광범위한 조직검사를 실시할 수 있다(Fig 4).

(4) 흡입생검(Aspiration biopsy)

조직검사에서 가장 작은 조직편이 떨어져 나오는 방법으로 여러 장기에서 합병증 없이 용이하게 시행할 수 있다. 침에 흡입된 것이 작은 조직편이라도 넉어리로 모아 통상적인 방법에 의해 조직표본을 만들어 판독할 수 있으며 진단적 가치가 높은 편이다. 그러나 개개의 세포집단으로 염어질 경우에는 도말(smear)하여 판독하게 되며 암의 유무를 판정하는 데 많이 이용된다.

나 절제 생검(Excisional biopsy)

종양 병소를 외과의사가 완전히 절제하여 병리의사에게 보내지는 경우이다. 병리의사는 제공받은 종양조직에서 많은 조직편을 통해 광학현미경상으로 절제된 면연부에 종양조직의 유무를 확인하여 의뢰한 임상의사에게 알려줄 필요가 있다. 그리고 임상의사는 절제 생검시에는 절제한 모든 종양조직을 병리의사에게 제공해야 한다. 병리과에 보내질 종양은 환자에게서 절제된 상태 그대로 보내져야 한다. 만일 임상의사가 병변에 대한 궁금증으로 절제한 종괴를 칼로 설파하거나 열어서 자른다든가, 낭성종양을 열어서 내용물을 없애는 경우 병리의사가 진단을 하는 데 많은 어려움을 줄 수 있다. 따라서 원형 그대로 보존된 가검물만이 정확한 병리진단을 얻어내는데 중요한 요인이 될 수 있을 것이다.

절제 생검에서 중요시하는 것으로 종양진단과 함께 종양조직이 절제연(resection margin) 까지 파급되었는가?를 판정하는 것이다. 만일 암세포가 절제연까지 파급되었다면 재수술을 통하여 더욱 광범위한 절제가 필요하나 절제연이 깨끗한 경우에서도 주위 림프절의 전이

(metastasis) 여부와 주병변의 조직학적 악성 정도에 따라 술후 추가치료 방침을 결정하고 예후를 판정하는데 영향을 줄 수 있다¹²⁾

다. 동결절편 검색(Frozen section)

동결절편은 시간이 오래 걸리는 파라핀절편 만큼 세포학적 소견이 양호하지는 못하나 숙련된 기술과 경험으로 암진단을 신속하게 하는 장점을 갖고 있다 예를들면 유방의 심부에 큰 종괴가 있을 경우 수술실에서 동결절편 검사를 시행하여 악성종양이란 진단을 얻을 경우가 많으며 이때는 즉시 근처적 수술을 할 수 있다

때로는 동결절편 검사상에서 종양성 병변의 정확한 진단을 얻지 못하는 경우가 있다 이때 무리한 진단을 하게 되면 위양성 진단으로 환자에게 불필요한 수술을 하게 되고 위음성 진단을 하게 될 때 재수술과 함께 환자에게 많은 불편과 과중한 비용부담을 줄 수 있으므로 동결절편 검색때 매매한 종양 병변일 경우에는 파라핀 절편으로 검색하여 정확한 진단을 얻을때까지 진단을 유보해야만 되는 때가 가끔 있다 동결절편은 이와 같이 신속한 진단을 얻을 수 있는 장점이 있는 반면에 그 표본의 질직면에 있어서는 파라핀 표본에 견줄 수 없게 떨어지므로 진단의 정확도는 진단적 생검에 따르지 못한다¹³⁾(Fig 5)

그러나 동결표본 제작과정에서 숙련을 갖게 되고 판독에 있어서 많은 경험과 신중함을 가진다면 진단율을 보다 높일 수 있을 것이다 그리고 임상의사들은 동결절편검사 의뢰시 확진을 얻기 위함보나는 워치적으로 수술방향 설정에 도움이 될 수 있는 꼭 필요한 때에만 하여야 한다 한편 동결절편은 신속한 진단 목적이에도 면역조직화학적 검사나 효소조직화학적 검사등에도 많이 이용되고 있다

2 세포학적 진단(Cytologic Diagnosis)

암을 진단하는 데 있어서 조직학적 검사 다음으로 널리 쓰이는 진단방법으로 Papanicolaou에 의해서 1928년 처음으로 기술된 후 1943년 학계에 공인된 세포학적 방법이다¹⁰⁾ 세포학적 진단법은 자궁경부와 자궁내막의 암을 발견하는 데 가장 널리 사용되어 왔다 세포학적 진단법은 주로 진단과 치료 목적으로 이용되며 신체의 표재성 병소뿐만 아니라 신체내부 실숙히 위치한 어떤 병소나 장기도 세포학적 검사의 표적이 될 수 있나¹¹⁾ 세포

학적 검사는 지난 수십년간 여러나라에서 자궁암의 사망률을 감소시키는데 큰 공헌을 하였다 자궁암의 위험률이 높은 여성 또는 일반 성인여성에게서 자궁경부암의 조기발견에 비교적 쉽게 이용될 수 있기 때문이다. 암의 세포학적 검사로서는 탈락세포학적 검사(exfoliative cytology)와 흡인세포학적 검사(aspiration cytology)가 있다³⁾(Fig 6) 탈락세포학적 검사는 자궁내경부 면봉법(endocervical swab)이나 흡입으로 얻은 분비물 또는 자궁경관 도말법(cervical scraping)으로 얻은 검체를 슬라이드 위에 도말하여 고정한 후 염색한다

역형성(anaplasia)으로 특징 지위지는 암세포는 대체로 접착력이 낫고 다양한 형태학적 변화를 보여준다 따라서 세포학적 진단에서 암을 판정하는 기준은 종양세포의 역형성 유무에 기준을 둔다 이것은 조직학적 방법에서 쓰는 구조적인 이상, 비정형유사분열, 주위조직에 침범여부 등과는 다르게 개개의 세포나 몇개의 세포덩어리를 내상으로 암세포의 존재 여부를 판단한다 이 방법은 정상, 이형성 및 암세포를 구분할 수 있을뿐만 아니라 상피내암 및 침윤암도 진단할 수 있다 자궁경부암의 세포학적 진단에 있어서 대체로 다음과 같은 용어를 사용하고 있다¹⁰⁾

Class I 정상

Class II 구소수의 이형세포

Class III 이형성(경도, 중등도, 극도로 세분함)

Class IV 상피내암

Class V 침윤성 암

그러나 1988년 National Cancer Institute에서 제정한 Bethesda system에서는 다음과 같이 분류하여 자궁경부암의 세포학적 진단을 하도록 제시하고 있다(Table 2)¹¹⁾

세포도막표본 검사의뢰지에 간혹 임상병력이 잘못 기재되거나 없는 경우가 있으며, 또는 부적절한 시료채취로 인해 오진을 초래할 수 있다 위음성의 판정은 주로 기관지 세척액, 부수, 흉수, 관절과 뇌척수액, 소변, 위세척액, 낚낭과 체장의 도관 흡입액 그리고 유방, 전립선, 갑상선 등의 침흡입천지등에서 나올 수 있다¹⁰⁾ 세포학적 검사로 암에 대한 양성판정이 나오면 수술전에 생길을 실시하여 조직학적으로 확인할 필요가 있다

흡인세포학적 검사는 가는 주사침으로 천사, 흡인하여 얻은 천사물은 세포학적으로 검사하는 것이며 형태

Table 2 Bethesda system for reporting cervical/ vaginal cytologic diagnosis

I. Epithelial cell abnormalities

A. Squamous cell

(1) Atypical squamous cells of undetermined significance

(recommend follow-up and/ or type of further investigation specify)

Squamous intraepithelial lesion (SIL) (comment on presence of cellular changes associated with HPV if applicable)

(2) Low-grade squamous intraepithelial lesion, encompassing

Cellular changes associated with HPV

Mild dysplasia/ CIN 1

(3) High-grade squamous intraepithelial lesion, encompassing

Moderate dysplasia/ CIN 2

Severe dysplasia/ CIN 3

Carcinoma in situ/ CIN 3

(4) Squamous cell carcinoma

B. Glandular cell

(5) Presence of endometrial cells in one of the following circumstances

Out of phase in a menstruating woman

In a postmenopausal woman

No menstrual history available

(6) Atypical glandular cells of undetermined significance

(recommend follow-up and/ or type of further investigation specify)

Endometrial

Endocervical

Not otherwise specified

(7) Adenocarcinoma

Specify probable site of origin endocervical, endometrial, extrauterine

Not otherwise specified

C. Other epithelial malignant neoplasm specify

II. Nonepithelial malignant neoplasm specify

학적 진단을 얻는 검사법을 세침흡인 생검세포학적 검사(fine needle aspiration biopsy cytology)라고 부른다¹⁾. 이 검사법은 침생검의 조직학적 검사와 탈락세포학적 검사의 중간에 해당되는 검사방법으로서 생검으로 얻은 조직학적 진단에 버금가는 결정적인 진단을 얻을 수 있다.

3. 전자현미경적 검색(Electron Microscopic Examination)

전자현미경은 그 해상력이 광학현미경에 비해 상당히 높으므로 광학현미경상에서 관찰할 수 없는 세포내외의 미세 구조물을 찾아내는 데 유용하게 사용되고 있다^{15), 16)}. 미세구조물의 관찰은 종양의 형태학적 진단에 이용될 뿐만 아니라 병변의 본질을 이해하는 데에도 많은 도움을 주고 있다. 진단병리 분야에서 암진단에 있어서 전자현미경의 적용 범위는 현재 상당히 넓어지고 있다. 전자현미경에는 2차원의 평면 구조를 관찰하는 투과전자

현미경(transmission electron microscope)과 3차원의 입체구조를 관찰할 수 있는 주사전자현미경(scanning electron microscope)이 있으며(Fig 7) 효소조지화하지 또는 면역조직화학적 방법 등 특수한 기법을 전자현미경적 검사 영역에 적용할 수 있다¹⁷⁾ 특히 생검조직을 대상으로 암을 진단하는 데 있어서 전자현미경의 사용은 최근 임상 및 병리의사에게 많은 관심을 가지게 되었다.

진단병리에서 전자현미경적 검사 목적은 주로 종양세포의 기원 즉 종양의 모세포가 무엇인지를 밝히는 데 있다 악성 종양세포들은 대개 모세포가 가지고 있던 형태와 기능의 일부를 유지하고 있으며 광학현미경상 나타나지 않는 미세한 부분을 전자현미경을 통해 관찰함으로서 종양의 세포학적 기원을 밝힐 수 있다(Fig 8). 신경초 종양, 평활근 종양, 악성 흑색종, Langerhans세포 증식증(histiocytosis X), 신경내분비세포 종양, 혈관 내피세포 종양, 횡분 종양, 중피세포 종양, 신세포 종양, 육종상 암종 등 그들의 모세포가 가지는 특이한 미세구조를 밝혀내므로서 진단에 도움을 준다 그러나 전자현미경 검색만으로 명확한 결과를 얻지 못하는 경우가 흔하므로 광학현미경 소견을 토대로 감별 질환들의 범위를 줄인 후 그들 질환에서 기대되는 미세구조물을 찾는 작업이 필요하다 특히 최근에는 각종 세포들에 존재하는 특징적인 중간 사상체(intermediate filament)나 단백성 물질들에 대한 항체가 개발되어 이들을 이용한 면역세포화학적 방법들이 전자현미경적 분야에 적용되어 전자현미경적 검색의 영역이 넓혀지고 있다.

전자현미경적 검색만으로 암을 진단하는 특징적인 기준은 없다 그러나 광학현미경상 분화가 좋지 않는 종양에서 전자현미경적 검색을 시도할 때는 상당한 정보를 제공받을 수 있다 예를들면 광학현미경적 관찰에서 암종, 육종 또는 악성립프종과 감별이 잘되지 않는 분화가 극히 낮은 종양조직으로부터 전자현미경적 관찰을 하면 암종에서는 교소체(desmosomes)와 특이한 구조의 연결 복합체(junctional complex)를 볼 수 있다 이런 구조는 육종과 립프종에서는 발견되지 않는다 흔히 상피종양에서는 상세사(tonofilaments)가 쌍(bundle)형태로 보이는데 비해 간엽성 종양에서는 가는 미세섬유를 보여준다 전이성 종양에 있어서는 세포질내에 특이한 과립을 발견할 경우 그 종양의 기원을 찾아내는 데 도움

을 받을 수 있다. 반일 멜라노좀을 종양세포내에서 관찰할 때 악성 흑색종을 진단할 수 있고, 한세막에 놀라싸인 전자밀도가 높은 과립을 관찰할 때 내분비 종양을 진단할 수 있다¹⁸⁾(Fig 9)

암을 진단하는 데 이용되는 전자현미경적 검사는 병변을 광학현미경으로 관찰한 병리의사가 직접 시행함으로서 보다 높은 진단율을 가질 수 있다 그리고 환자의 임상 병력과 소견, 병변의 육안 및 광학현미경적 소견을 종합함으로서 전자현미경적 검색 방향을 정하는 네 유용한 기초자료가 될 수 있다 그러나 무엇보다도 전자현미경용 조직의 재취 및 시료제작과정에서의 숙련도와 함께 관독하는 병리의사의 경험 정도와 관독자의 주관성이 진단에 많은 영향을 줄 수 있다 그리고 전자현미경적 검색의 범위가 한정되어 있고 병변의 구체적 일부분만을 관찰함으로 때로는 병변전체를 대표할 수 없는 경우도 있으므로 전자현미경적 소견 단독만으로는 암을 진단하는 데 어려운 점이 많다 전자현미경적 검색을 정확하게 하는데 가장 우선되는 것은 양질의 표본을 제작하는 것이며 이를 위해서는 전자현미경 시료재취 후 즉시 전자현미경용 고정액(25% glutaraldehyde)에 넣어 신속히 고정시킴으로서 채취한 조직에 최대한의 인위적인 조직손상을 줄일 수 있다 가끔 광학현미경적 검색 이후 포로말린에 고정된 조직을 이용해서 하거나 또는 파라핀 블록으로부터 조직을 꺼내어 사용해야 될 경우가 있다¹⁹⁾ 물론 이런 경우 인위적인 조직손상이 훨씬 크지만 교소체, 전자밀도가 큰 과립들 또는 멜라노좀 등 진단적인 가치가 있는 미세구조물들이 발견됨으로 시도해 볼 가치가 있다 그러나 가능한 적절한 조직채취, 신속한 조직고정과 양질의 시료제작 과정을 통해 선명한 미세구조적 변화를 관찰할 수 있으며 이를 토대로 전자현미경적 진단을 정확하게 내릴 수 있다⁸⁾

4. 생검조직을 이용한 특수 진단법(Special Diagnostic Methods of Biopsy Sample)

최근 분자 생물학적 방법론의 팔목할만한 발전에 힘입어 질병의 본래를 세포내지는 유전사 수준에서 이해하고자 하는 노력이 크게 늘어나고 있다 병변의 본래를 정확히 파악하기 위해서는 병적 변화가 생긴 장기중의 어느 세포에서, 또한 세포의 어느 부분에서 그 변화가 일어났는지를 알아야 하며 이를 위해서는 형태와 기능

의 변화를 상호 밀접한 관련하에서 추구 검색하는 것이 중요하다 이러한 필요성에 의해 최근 진단병리학 분야에서도 여러가지 특수검사법이 도입되었고 조직학적 진단에 활용되고 있다¹⁰⁾ 특히 암환자로부터 새취한 생체 조직을 이용하여 각종 종양표지를 이용한 그 활용 가치는 매우 높다고 보며 향후에도 이 방면에 많은 시도와 방법론이 축적되고 각종 암의 양태에 따른 특이한 종양 표지의 개발도 활발히 이루어질 것으로 기대된다

생검을 이용한 특수진단방법에는 다음과 같은 종류가 있다

가. 조직화학법(Histochemistry)

조직화학법은 조직 또는 세포내에 있는 미지물질의 존재부위(localization)를 광학현미경 또는 전자현미경으로 관찰하는 기법을 총칭하는 것으로 진단 병리학에서는 통상적으로 쓰이는 특수염색(디당류 염색, 지방염색, 도은법 등), 효소조직화학(enzyme histochemistry), 면역조직화학(immunohistochemistry), 자기방사기록법(autoradiography) 등으로 대변할 수 있다 그리고 이들 중 단일 물질의 국소적 존재여부를 특이적으로 검출하는데 주로 효소조직화학법과 면역조직화학법이 이용된다⁵⁾ 효소조직화학법은 효소와 기질간의 특이반응을 기반으로 하고, 그 검색 표적이 효소이며 효소기질의 특이

반응 생성물을 광학 또는 전자현미경으로 관찰하게 된다 면역조직화학법은 항원과 항체간의 특이반응으로 상호작용되며 조기 혹은 세포중에 존재하는 항원을 그에 특이적으로 반응하는 항체로서 검출하는 방법이다 이를 특이 항체에 형광색소나 효소 등을 표지해서 조직이나 세포중의 항원에 작용시킨 후, 그 표지 반응물을 광학 또는 전자현미경으로 관찰한다

최근에는 이들 조직 특이항체를 이용하여 다음과 같이 암의 진단에 있어서 그리고 치료 및 예후를 정하는데 널리 이용되고 있다

(1) 악성종양의 감별진단 및 원발소 규명

생검조직의 통상적 hematoxylin-eosin 염색으로 감별이 곤란한 미분화 악성종양에서 각종 조직 특이항체를 이용하여 암종과 육종을 감별하고, 육종간의 세분류 및 원발소를 규명하는 데 이용된다

(2) 유방암, 사궁내막암, 난소암 및 위암 등에서 에스트로겐, 프로제스테론, ECF 수용체등을 검색하여 홀몬 치료 및 예후 판정에 활용된다

(3) B 및 T림프구의 아형을 동정하여 림프종의 진단과 분류 그리고 면역기선 분석에 활용된다

현재 면역조직화학적 검출의 대상이 되는 많은 물질들이 개발되어 암 진단에 이용하고 있다(Table 3, 4)

Table 3. Selected tumor markers and associated cancers

Hormones	
Human chorionic gonadotropin	Trophoblastic tumors, nonseminomatous testicular tumors
Calcitonin	Medullary carcinoma of thyroid
Catecholamine and metabolites	Pheochromocytoma and related tumors
Ectopic hormones	Paraneoplastic syndromes
Oncofetal antigens	
Alpha-fetoprotein	Liver cell cancer, nonseminomatous germ cell tumors of testis
Carcinoembryonic antigen	Carcinomas of the colon, pancreas, lung, stomach, and breast
Isoenzymes	
Prostatic acid phosphatase	Prostate cancer
Neuron-specific enolase	Small cell cancer of lung, neuroblastoma

Specific proteins

Immunoglobulins	Multiple myeloma and other gammopathies
Prostate-specific antigen	Prostate cancer

Mucins and Other Glycoproteins

CA-125	Ovarian cancer
CA-19-19	Colon cancer, pancreatic cancer
CA-15-3	Breast cancer

Table 4 Intermediate filaments and their distribution in tumors

Keratins	Carcinomas Mesothelioma
Desmin	Muscle tumors, smooth, striated
Vimentin	Mesenchymal tumors, some carcinomas
Ghaf filaments	Gliomatous tumors
Neurofilaments	Neuronal tumors

나 In situ 분자 잡종법(*In situ hybridization*)

In situ 분자 잡종법은 세포내에서 조작 수준에서 DNA나 mRNA와 같은 어느 일정한 염기 배열을 가진 핵산의 유무를 확인하는 방법이다²⁰⁾. 이 방법은 처음에는 핵내에서 증폭된 rRNA나 핵내 DNA의 검출에 이용되었으나 최근에는 염색체상에서 유전자의 위치를 결정하는 데 필수적인 방법으로 대두되었다.

유전자 cloning의 발달로 디수의 단백 cDNA나 anti-sense RNA의 입수가 용이하게 되어 *In situ* 분자 잡종법은 현재 바이러스학, 유전학, 세포생물학 뿐만 아니라 암의 진단에 있어서 그리고 암의 본래를 밝히는 데 있어서도 활발히 시도되고 있다²¹⁾ (Fig 10). 즉 종양에서는 증폭 암유전자 혹은 성상위자 관련 유전자 산물의 존재 여부를 검색하고 특정 홀보 분비 유전자를 감색하여 신경내분비 종양의 특성을 연구할 뿐만 아니라 각종 암의 유전자를 찾아내는 데도 응용하고 있다. 본 교실에서는 *In situ* 분자 잡종법을 이용하여 이동²²⁾은 사궁경부암종에 있어서 인체유두종 바이러스(human papillo-

mavirus, HPV)와의 관계, 특히 각 병소에 따른 HPV형의 특성 및 빈도 등에 관한 연구를 하였고 김등²³⁾은 후두의 사마귀모양 암종 (verrucous carcinoma)에서 인체유두종 바이러스(HPV) 16/18, 31/33/35의 검색을 실시한 바 있다.

다 Flow cytometry

림프구의 표지항원 검색에 주로 사용되던 flow cytometry는 최근 고형종양 분석방법의 기술이 개발됨에 따라 진단병리학 분야에서도 점차 그 활용도가 넓어지고 있다⁵⁾. Flow cytometry는 형광물질로 표지된 각종 세포 성분을 단시간에 내량으로 검색할 수 있을 뿐만 아니라 개개 세포들의 크기, 형태 그리고 생화학적 또는 항원 특이성에 따른 세포의 특성을 개별적으로 혹은 통합적으로 분석할 수가 있다. Flow cytometry는 미량의 표지물질도 인지할 수가 있기 때문에 면역형광현미경에 비하여 성확도와 민감도가 훨씬 높고 혼합 세포집단에서 여러아형의 세포군들을 측정, 분리할 수도 있어 분리된 세포의 기능적 및 형태적 특성 연구에도 큰 도움을 줄 수 있다²⁴⁾. 지난까지 인체세포를 이용하여 임상적으로 flow cytometry를 크게 두 분야 즉 림프망상계 세포의 표면항원에 대한 정량적분석과 고형종양세포 DNA 함량의 성량적 분석에 주로 활용해 왔다. 인체 고형종양에서 DNA 측정은 악성 종양의 진단과 예후 설정에 중요한 역할을 한다. 특히 최근에는 고형 종양에서도 DNA 이외에 여러가지 다른 표지물질에 대한 활용이 확장되고 있다(Table 5).

그러나 대부분의 경우 고형종양에서 flow cytometry의 활용은 농상식인 형태학적 진단법에 보조적인 역할을 하는 데 그치고 있다. 이외에도 백혈병과 악성 림프종에 있어서도 다양한 림프구 표지항원을 검색하여 진단

Table 5. Markers applied in flow cytometry of solid tumors

Intrinsic cell properties-light scatter, volume
RNA
Cytokeratin
Oncogene products
Proliferation-associated antigens
Tumor-associated antigens

및 병변의 진행 경과 등에 중요한 정보를 제공받을 수 있다⁵⁾.

라 화상 분석법(Image analysis)

지금까지 병리학적 진단이 주로 형태학적 변화에 그 기초를 두어 왔으나 최근 컴퓨터 기술의 발달로 이러한 형태학적 변화를 계량적으로 측정하여 객관적이고, 재현성이 높은 분석 결과를 화상분석법을 통하여 얻어내고 있다. 화상 분석법을 이용하면서 염색체의 핵형뿐만 아니라 조직 혹은 세포의 각종 parameter(크기, 면적, 갯수, 직경, 염색체 양상, 밀도, 모양 등)들을 객관적인 수치로 측정, 분석함으로써 암의 진단에 있어서 종양세포와 비종양세포, 경계 영역병변(borderline lesion) 등의 감별에 활용되고 있다. 또한 종양세포의 DNA ploidy 분석도 가능하다⁵⁾.

결 론

오늘날 암진단을 위한 각종 기기들이 많이 개발되고 각종 방법론들이 활발히 제시되고 있으나 암을 확진하는데 있어서 조직학적 진단은 여전히 가장 중요한 진단 방법이며 이는 광학현미경상에서 유안적 관찰에 의존하고 있다. 암진단에 있어서는 과학적인 성화성과 숙련된 기술적인 면이 동시에 요구되고, 시대에 필요한 요소로서는 현미경과 제작된 자료(slide) 및 이를 관찰하고 판단하는 능력이다. 이외에 진단병리 영역에 세포학적 검사, 누파 및 주사전자현미경식 관찰, 효소조직화학적 방법, 면역형광법 및 면역조직화학적 방법 등 생김 조직을 이용한 특수검사 방법들이 개발되어 응용되고 있다. 이를 새로운 진단방법들에 의해 폐기에는 밝혀지지 않았던 세포내 구조, 세포내 사상체, 양원표지 및 특수효소

등이 상당히 밝혀지게 되었다. 예를 들어 교소체와 미소용모를 갖는 암세포는 상피성 기원임을 알 수 있고, 내분비세포는 한계막으로 둘러싸인 선자밀도가 높은 과립을 가지고 있음이 밝혀져 이를 미세구조를 관찰하므로서 진단 목적으로 이용할 수 있다. 또한 면역조직화학적 방법으로 검출되는 myoglobin과 myosin은 그 종양이 간엽성 종양으로서 근육조직에서 기원한 것임을 알 수 있다. 최근 특정 암들에 대한 방사선 치료법과 화학요법의 발달로 임상의사들은 암성종양의 정확한 조직학적 진단을 요구하게 되었다. 그러나 대다수의 암들은 통상적으로 시행하는 세포학적 검사와 조직학적 검사를 통해 진단이 되고 있으나, 드물게는 미분화 암종으로 정확한 조직학적 유형이 모호하며, 선이된 암의 병소인 경우 원발 병소를 규정하는 데 많은 어려움을 갖게 되는 경우가 흔하다. 따라서 최근에는 특성암을 특징지울 수 있는 종양 표지를 찾으려는 노력이 한층 높아지고 있으며, 현재는 종양의 조직학적 감별진단시 표지물질(효소, 항원, 중간 사상체 등)을 이용하여 효소조직화학 및 면역조직화학적 방법을 적용함으로서 암을 진단하는 데 있어서 대단히 편리하게 사용되고 있음은 주지의 사실이다. 그리고 생검조사를 이용한 각종 특수진단 방법들이 활발히 개발되어 실제 조직 진단분야에 응용되고 있음은 전통적으로 형태학적 기준에만 의존해 왔던 진단병리에 있어서 분자생물학적 방법이 첨가되어 형태와 기능의 접목을 이룸으로서 신단병리 영역을 한층 넓혀주고 있다.

참 고 문 헌

- Lee JD Fine needle aspiration biopsy cytology. *J Kor Med Assoc* 1990, 33: 1293-1296
- Rosai J Ackerman's *Surgical Pathology*, ed 7 St Louis, CV Mosby Co, 1989, pp 31-46
- Lee JD *Diagnostic Cytology* Seoul, Daehak Publishing Co, 1986, pp 655-657
- Lee JD *Color Atlas of Diagnostic Cytology* Seoul, Korea Medical Publishing Co, 1989
- Jang JJ Special diagnostic methods and clinical applications of biopsy sample *J Kor Med Assoc* 1990, 33: 1300-1304
- Rubin E *Pathology* Philadelphia, JB Lippincott

- Co, 1988, pp 146-151
- 7 Cotran RS *Robbins Pathologic Basis of Disease*, ed 4 Philadelphia, WB Saunders Co, 1989, pp 299-303
- 8 Park CI Diagnostic electron microscopy *J Kor Med Assoc* 1990, 33 1305-1307
- 9 Fenoglio-Preiser CM, Willman CL Molecular biology and the pathologist General principles and applications *Arch Pathol Lab Med* 1987, 111 601-619
- 10 병리학, 내·외·병리학회편, 서울, 고문사, 1990, pp 267-270
- 11 자제근, 이유성 조식학적 검사상의 오판 진단과 치료 1982, 2 40-42
- 12 Chi JG Tissue pathology examination *J Kor Med Assoc* 1990, 33 1288-1292
- 13 Hwang TS, Ham EK, Kim CW, et al An evaluation of frozen section biopsy in 4434 cases *J Kor Med Sci* 1987, 2 239-245
- 14 Solomon D The 1988 Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses Developed and approved at the National Cancer Institute workshop in Bethesda, Maryland, December 12-13, 1988 *Hum Pathol* 1990, 21 704-708.
- 15 손태중 의학 생물학 영역에 있어서 응용 선지현미경학. 서울, 대한교과서 주식회사, 1988, pp 3-15
- 16 Erlandson RA *Diagnostic Transmission Electron Microscopy of Human Tumors The interpretation of submicroscopic structures in human neoplastic cells* New York, Masson Publishing Inc, 1981
- 17 Williams MJ, Uzman BG Uses and contributions of diagnostic electron microscopy in surgical pathology A study of 20 Veterans Administration hospitals. *Hum Pathol* 1984, 15 738-745
- 18 Kwon KY, Chung CH Ultrastructural observation of pheochromocytoma *Keimyung Univ Med J* 1983, 2 116-135
- 19 Wang NS, Minassian H The formaldehyde fixed and paraffin embedded tissues for diagnostic transmission electron microscopy A retrospective and prospective study *Hum Pathol* 1987, 18 715-727.
- 20 Hofler H What's new in "In situ hybridization?" *Pathol Res Pract* 1987, 182 421-430
- 21 Wolfe HJ DNA probes in diagnostic pathology *Am J Clin Pathol* 1988, 90 340-344
- 22 Lee SS, Kim KK, Chung CH, et al Detection of human papillomavirus DNA by in situ hybridization using biotinylated DNA probes in cervical intraepithelial neoplasms and squamous cell carcinomas. *Kor J Pathol* 1990, 24 16-26
- 23 Kim KK, Lee SS, Park JS Detection of human papillomavirus 16/18, 31/33/35 in verrucous carcinoma of the larynx by in situ hybridization with human papillomavirus DNA probes *Kor J Pathol* 1990, 24 95-102
- 24 Coon JS, Landay AL, Weinstein RS Advances in flow cytometry for diagnostic pathology *Lab Invest* 1987, 57 453-479

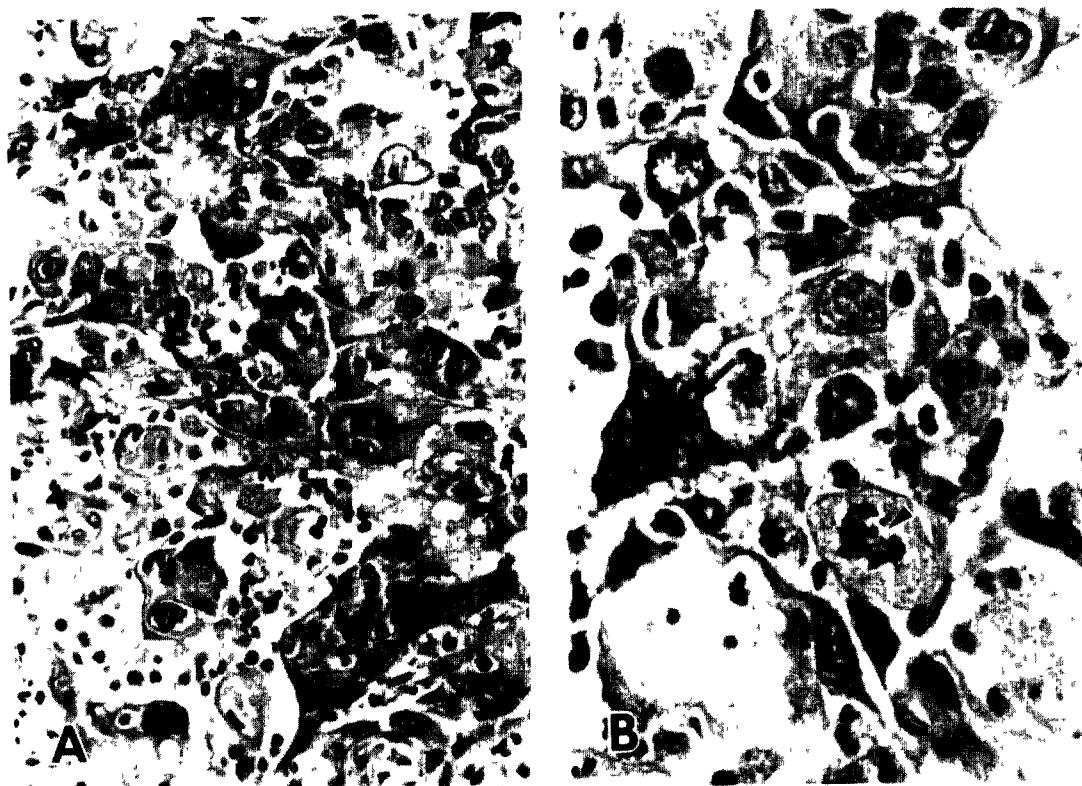


Fig 1. Anaplastic features of malignant tumor. (A) The cells of this anaplastic carcinoma are highly pleomorphic. The nuclei are large relative to the cytoplasm and double (B) A multinucleated tumor cell (arrow) and a tumor cell with atypical mitosis (arrow head) are seen.

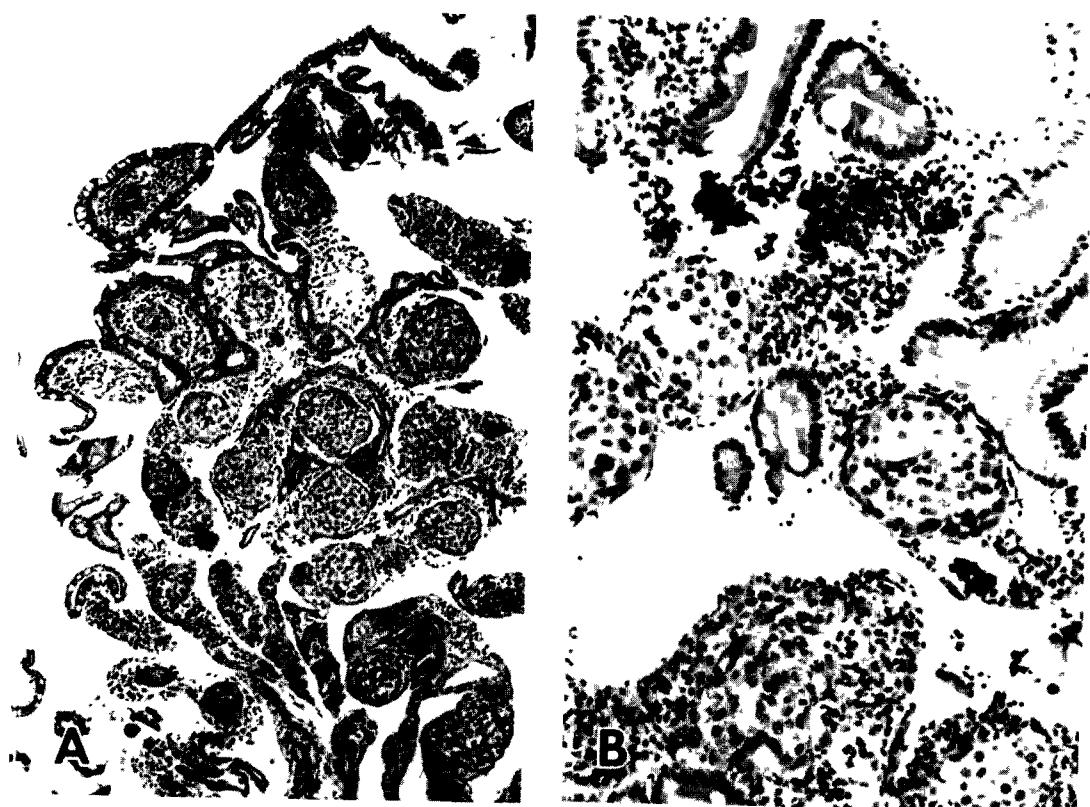


Fig 2 Endoscopic biopsy (A) Multiple tumor foci of metastatic carcinoma are found in the duodenal mucosa
The primary tumor is a ductal carcinoma arising from female breast (B) Higher magnification

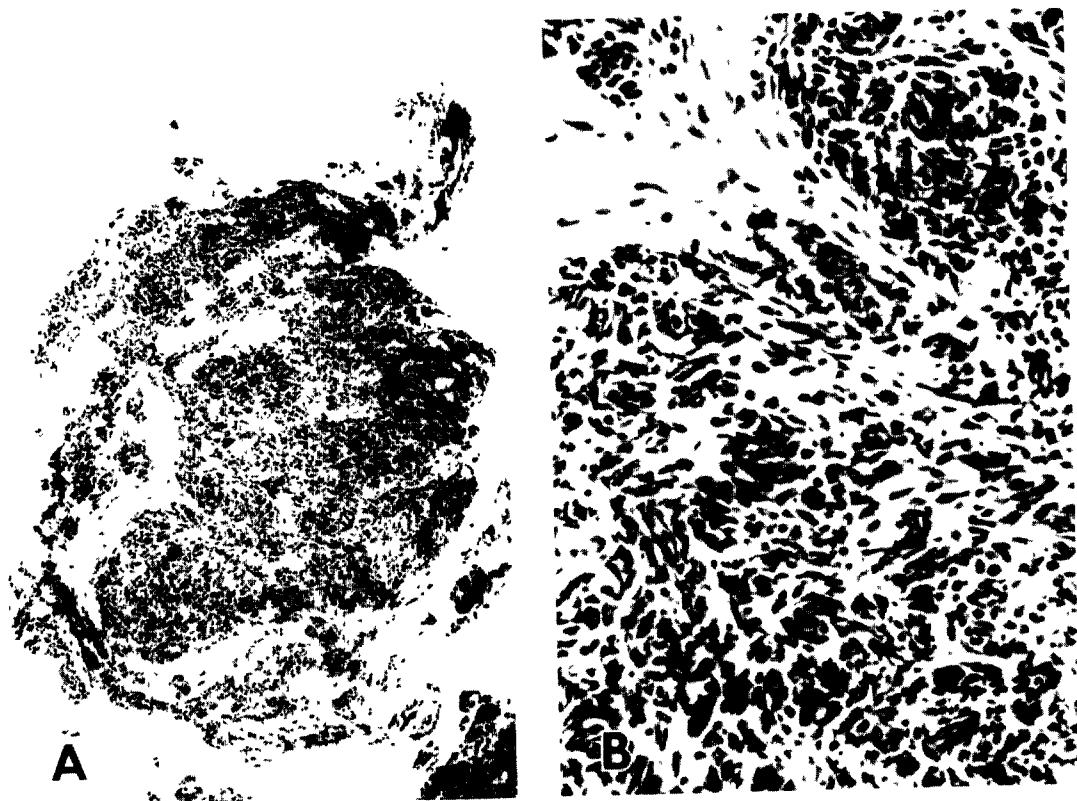


Fig 3 Needle biopsy of pleural area. (A) Small cell carcinoma, direct extended from lung. High cellular tumor nests are noted. (B) The tumor cells reveal polygonal or fusiform nuclei with dense chromatin.

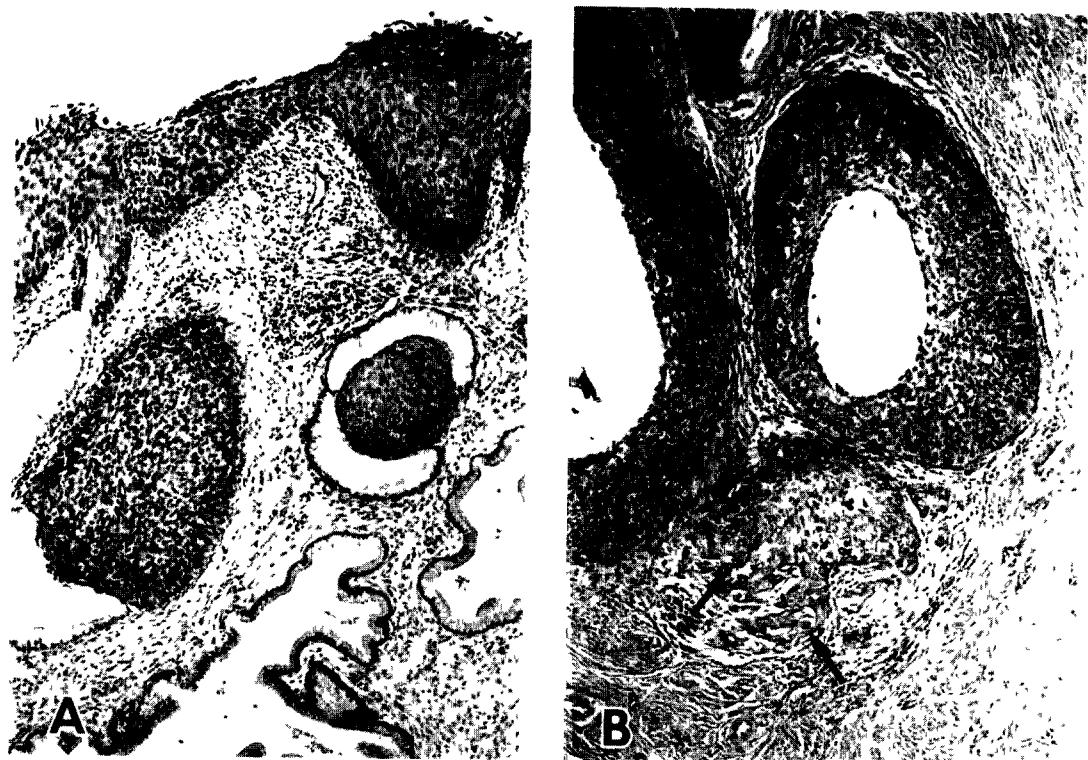


Fig 4 Cone biopsy of cervix (A) Carcinoma *in situ* with glandular involvement (B) Invasive focus (arrows) is noted in a case of microinvasive squamous cell carcinoma

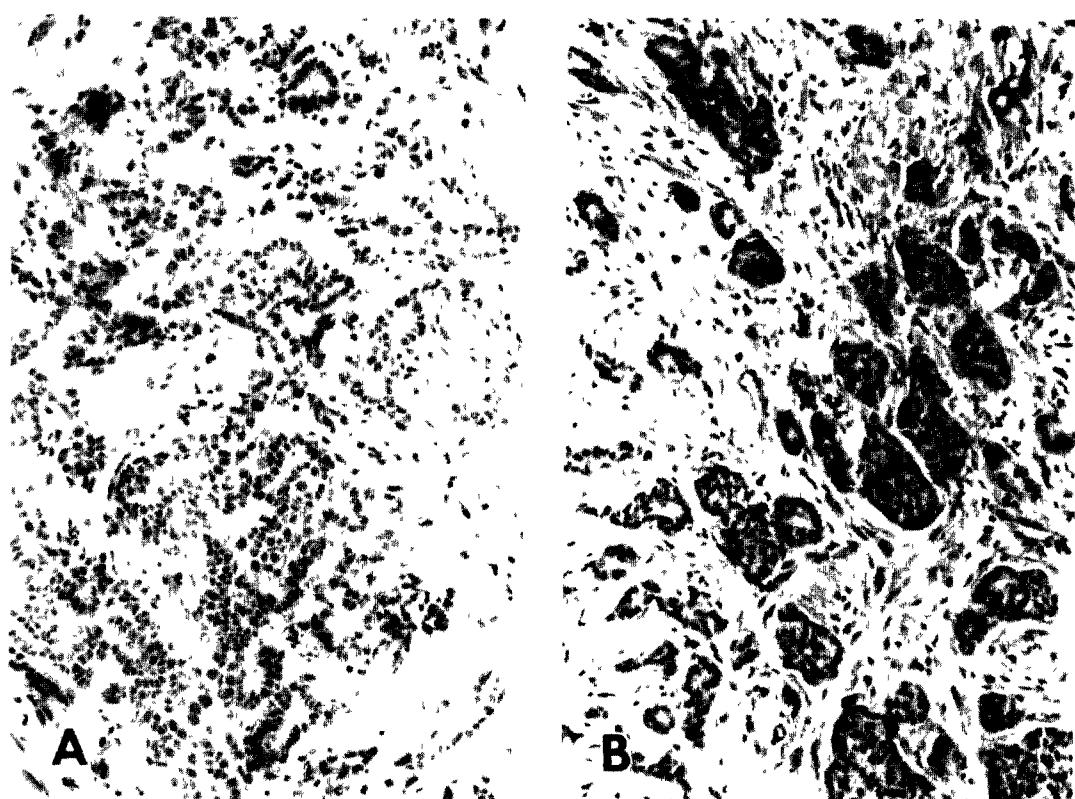


Fig 5 Comparison between frozen section (A) and paraffin-embedded permanent section (B) in the same case of mammary ductal carcinoma (A) The tumor cells show cloudy nuclei and indistinct chromatin pattern. (B) The tumor cells show more distinct tubular structures or nests than frozen section.

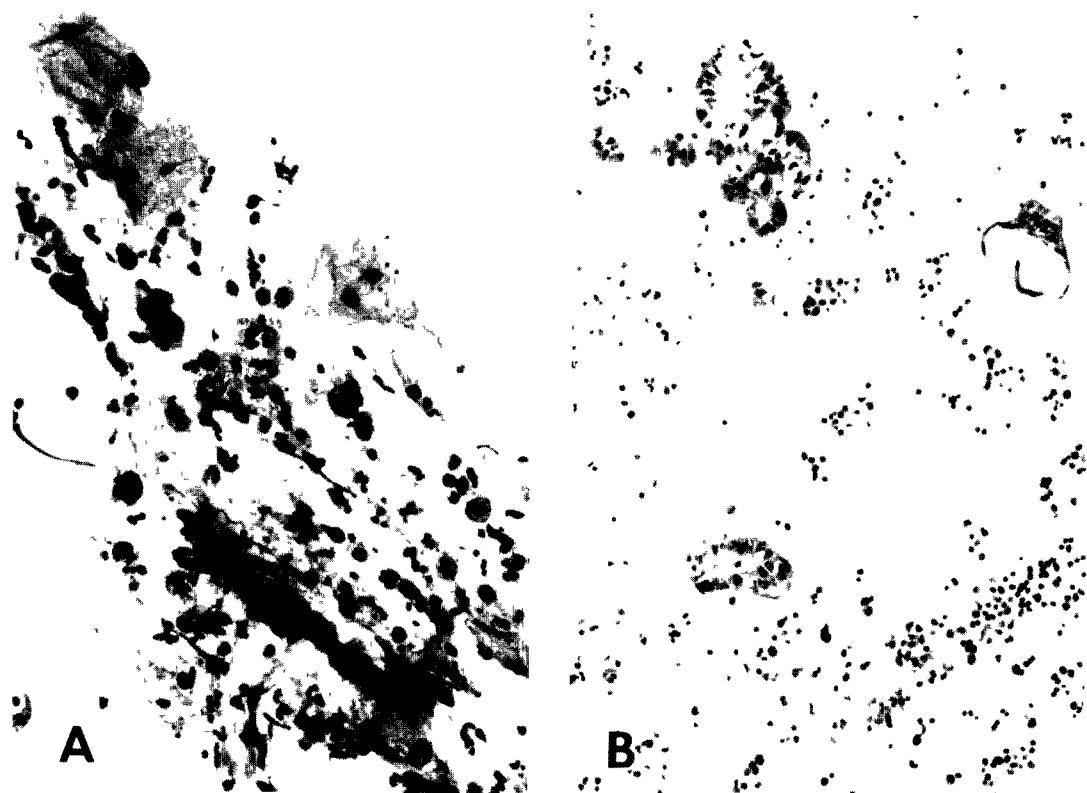


Fig 6. Cytologic examination (A) An exfoliative cell smear of vaginal secretions in a case of cervical carcinoma. Many anaplastic cells with pleomorphic hyperchromatic nuclei (B) An aspiration smear of peritoneal fluid in a case of gastric carcinoma. Several anaplastic glands are well obtained in the smear

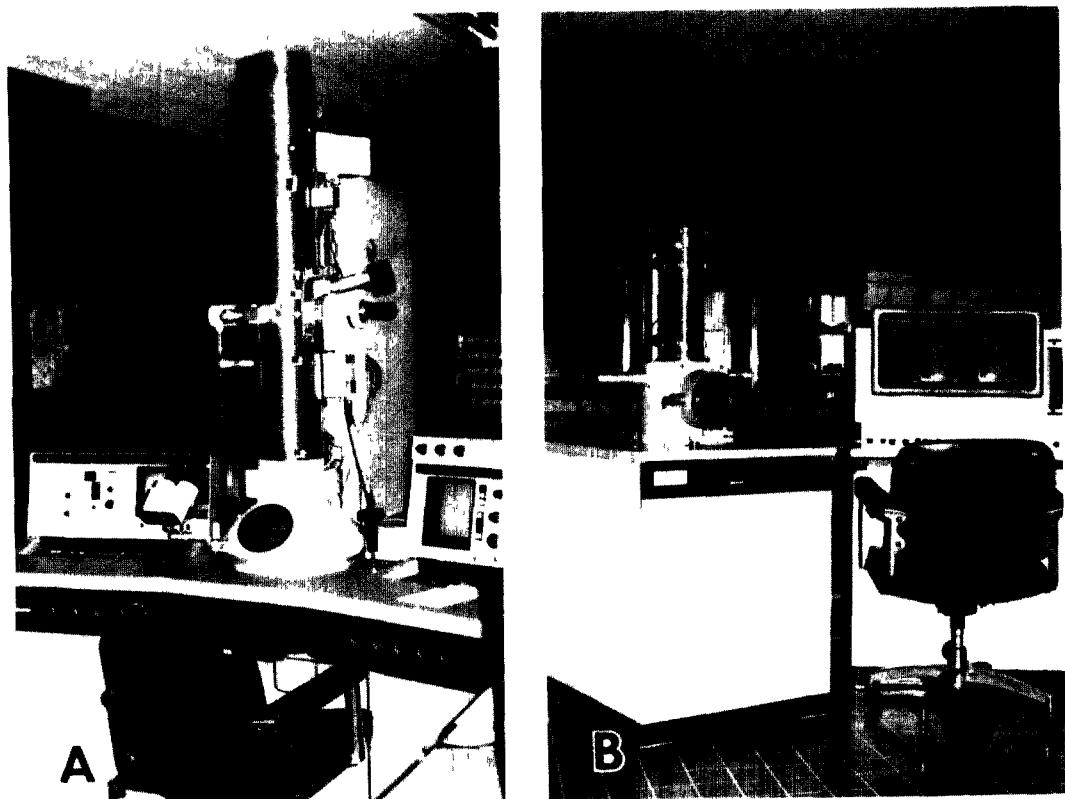


Fig. 7 Central electron microscopy laboratory in Keimyung University School of Medicine (A) Transmission electron microscope(Hitachi H-600) (B) Scanning electron microscope(Hitachi S-520)

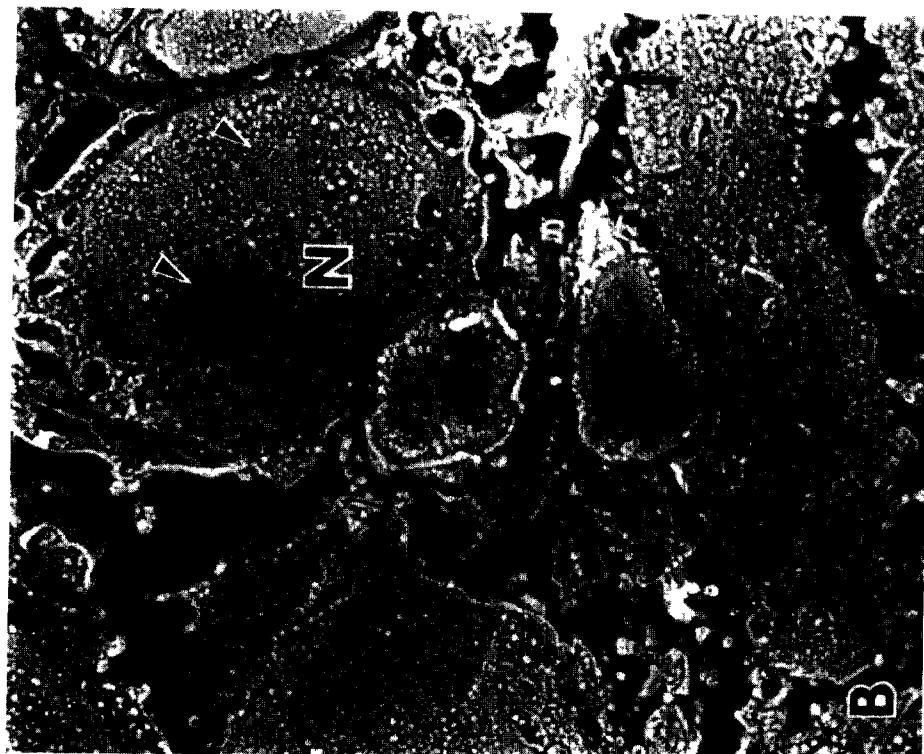


Fig 8 (A) Transmission electron microscopic examination in a case of carcinoma. The tumor cells show distinct desmosomal structures (arrows) and intracytoplasmic tonofilaments (arrow heads). The tumor is originated from squamous cells X 5,600 (B) Scanning electron microscopic examination of the same case A tumor cell shows enlarged nucleus with prominent two nucleoli (arrow heads). Also many intercellular bridges (arrows) are noted N nucleus, X 11,500

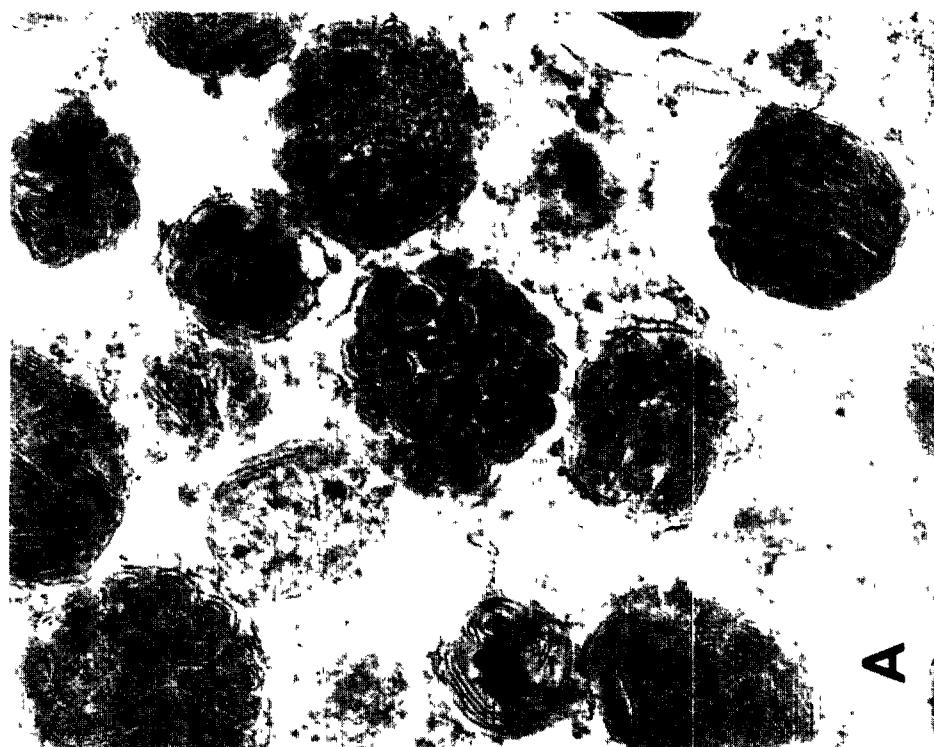
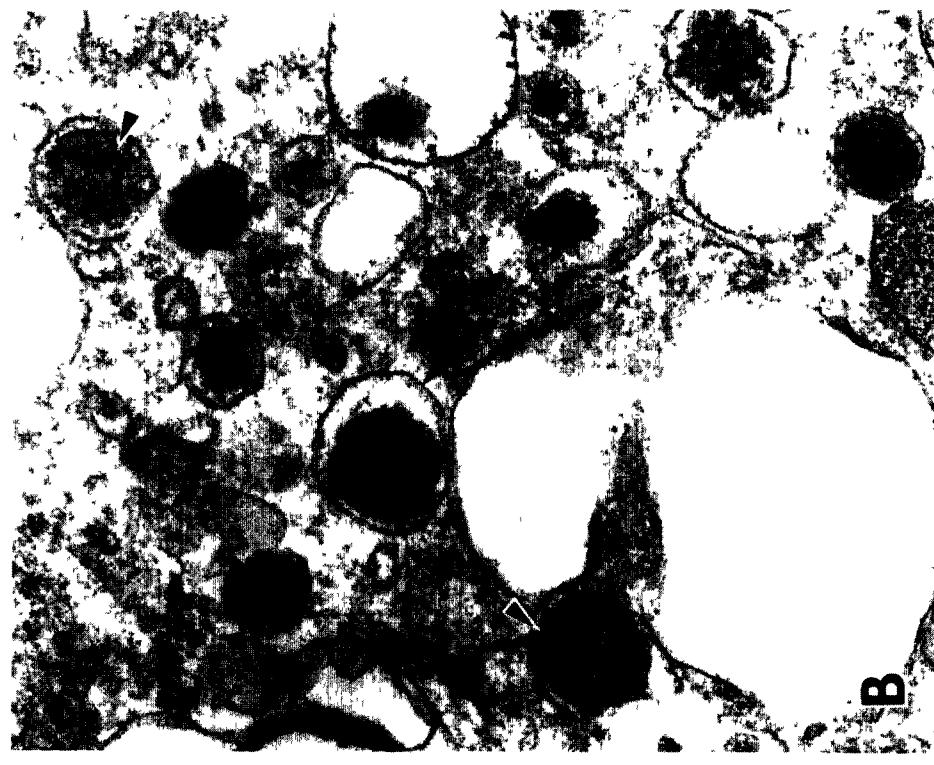


Fig 9. (A) Many melanosomes with varied shape are observed in a case of malignant melanoma. X 42,000 (B)
Membrane bounded electron dense granules are well seen in a case of pheochromocytoma. Arrow
norepinephrine granule, Arrow heads epinephrine granules X 49,000

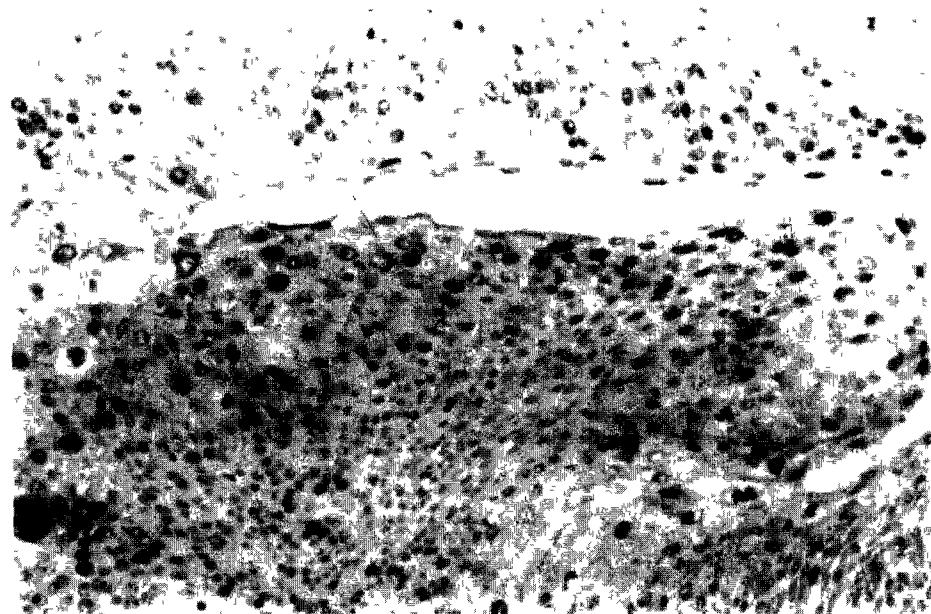


Fig 10 In situ hybridization of intratracheal papilloma with a mixed probe of HPV-6/11. There is evenly distributed nuclear staining through out the tumor cells