

신세포암종의 분류에서 AMACR과 Claudin-7의 유용성

심상화 · 주 미 · 김한성 · 장선희
권기영¹

인제대학교 일산백병원 병리과
¹성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 병리과

Diagnostic Utility of AMACR and Claudin-7 for the Classification of Renal Cell Carcinoma

Sang Hwa Shim · Mee Joo · Han-Seong Kim · Sun Hee Chang · Ki-Young Kwon¹

Department of Pathology, Ilsan Paik Hospital, Inje University College of Medicine, Goyang;
¹Department of Pathology, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

Background : The histologic classification of renal cell carcinoma (RCC) is based on the cytoarchitectural features, yet sometimes this requires correlation with the immunophenotype. Alpha-methylacyl-CoA racemase (AMACR) and claudin-7 have recently been introduced as useful markers that are frequently expressed in papillary RCC (PRCC) and chromophobe RCC (ChRCC), respectively. The aims of this study are to evaluate the expressions of AMACR and claudin-7 in RCCs and to investigate whether they are helpful for making the histological classification of RCCs. **Methods :** Immunohistochemistry for CD10, RCC marker, cytokeratin (CK)7, CD117, AMACR and claudin-7 was performed for 104 RCCs, and these consisted of 54 clear cell RCCs (CCRCC), 26 PRCCs and 24 ChRCCs. **Results :** For diagnosing PRCC, the sensitivity and specificity of AMACR were 92.3% and 71.8%, respectively, and using AMACR(+)/CK7(+), the specificity was increased by 23.1% to 94.9%. For diagnosing ChRCC, the sensitivity and specificity of claudin-7 were 91.7% and 78.8%, respectively, and using claudin-7(+)/AMACR(-), the specificity was significantly improved (to 96.3%). For diagnosing CCRCC, CK7(-)/claudin-7(-)/CD117(-) was the most useful immunohistochemical panel (sensitivity, 96.3%; specificity, 98%). **Conclusions :** AMACR and claudin-7 are helpful markers for the histologic classification of RCCs, and their diagnostic utility is strengthened when they are used as an immunohistochemical panel, AMACR(+)/CK7(+) for PRCC, claudin-7(+)/AMACR(-) for ChRCC and CK7(-)/claudin-7(-)/CD117(-) for CCRCC.

Key Words : Carcinoma, renal cell; Alpha-methylacyl-CoA racemase; Claudin-7; Immunohistochemistry

접 수 : 2009년 9월 14일
게재승인 : 2009년 10월 29일

책임저자 : 주 미
우 411-706 경기도 고양시 일산구 대화동
2240 인제대 일산백병원 병리과
전화: 031-910-7141
Fax: 031-910-7139
E-mail: mjo@paik.ac.kr

*This work was supported by the 2008
Inje University research grant.

신세포암종(renal cell carcinoma, RCC)은 신장에서 발생하는 가장 흔한 원발성 악성종양이다. 세계 보건 기구에서는 신세포종양(renal cell tumor)중에서 악성종양을 총 10가지로 분류하고 있는데,¹ 그 중 투명세포 신세포암종(clear cell RCC, CCRCC), 유두상 신세포암종(papillary RCC, PRCC), 혐색소성 신세포암종(chromophobe RCC, ChRCC)이 가장 흔한 아형으로 전체 신세포암종의 약 85-90%를 차지한다.² 신세포암종의 조직학적 분류는 tumor-node-metastasis (TNM) stage 및 임상적 조건과 더불어 환자의 예후에 중요한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.³

신세포암종은 아형별로 특징적인 종양 세포의 소견과 형태학적 구조가 잘 알려져 있어 대부분 광학현미경 관찰만으로 그 분류가 용이하지만, 두 가지 이상의 세포로 구성되거나 특징적인

조직학적 구조를 보이지 않는 경우에는 조직학적 분류가 어렵다.⁴⁻⁷ 이러한 경우 정확한 조직학적 분류를 위해서는 세포유전학적검사(cytogenetics) 또는 분자유전학 검사가 가장 정확하고 도움이 되는 것으로 알려져 있으나, 상기 검사가 용의하지 않은 병리검사실에서는 면역조직화학염색이 가장 널리 이용되는 유용한 검사라 할 수 있다.

현재까지 신세포암종의 조직학적 분류에 가장 흔하게 사용되고 있는 항체는 CD10, RCC marker (RCC), vimentin (Vim), cytokeratin 7 (CK7), epithelial membrane antigen (EMA), E-cadherin, CD117 (c-kit) 등이 있다. 이들 중 CD10, RCC 및 Vim은 혐색소성 신세포암종에 비하여 투명세포 신세포암종과 유두상 신세포암종에서 상대적으로 높은 발현율을 보이고, CK7은 유두상 신세포암종과 혐색소성 신세포암종에서는 흔히

양성이나 투명세포 신세포암종에서는 5% 미만의 낮은 양성을 보인다. 또한 EMA는 3가지 아형 모두에서 고루 발현하나, 발현 양상에 차이를 보이는 것으로 알려져 있으며, E-cadherin은 협색소성 신세포암종에서는 상대적으로 높은 양성을 보이지만, 투명세포 신세포암종과 유두상 신세포암종에서도 발현함으로써 특이도는 낮다고 할 수 있다. 그리고 CD117은 협색소성 신세포암종과 호산과립세포종에서 50-100%의 양성을 보이지만, 투명세포 신세포암종과 유두상 신세포암종에서도 각각 15%, 28%의 양성을 보인다.⁸⁻¹⁰ 이와 같이 각각의 항체가 여러 아형에서 다양하게 발현될 수 있으므로 조직학적 분류의 유용성에 제한이 있다.

Alpha-methylacyl-CoA racemase (AMACR)와 claudin-7은 각각 유두상 신세포암종과 협색소성 신세포암종에 특이적으로 발현되는 항체로 최근 소개되었다.¹¹⁻¹⁴ AMACR은 지방산과 담즙산의 대사에 관여하는 사립체와 과산화소체의 효소로서 alpha-methyl의 라세미화 반응을 담당하는데,¹⁵⁻¹⁷ 전립선암의 진단에 그 유용성이 처음 보고된 이후,¹⁸ 그밖에 여러 종류의 암에서 과발현이 보고된 바 있다.^{19,20} 특히 신세포암종에서는 여러 아형 중 유두상 신세포암종에서 가장 높은 발현율을 보이는 것으로 알려져 있는데,^{11,12} Tretiakova 등¹²이 시행한 면역조직화학염색 연구에서는 유두상 신세포암종의 100%에서 AMACR이 발현되었다고 보고된 바 있다. 그러나 실제로 투명세포 신세포암종의 약 25%까지 AMACR의 양성이 보고되고 있어 신세포암종의 아형 분류에 있어서의 유용성은 분명하지 않다.^{8,11}

한편, claudin은 상피 폐쇄막을 이루고 있는 주요 단백질 중 하나로, 현재까지 24종류가 보고되어 있는데,²¹ claudin의 상향조절(up-regulation) 또는 하향조절(down-regulation)은 다양한 종류의 암 발생과 연관이 되어 있는 것으로 알려져 있다.²²⁻²⁴ 그 중 claudin-7은 신장 원위세뇨관의 상피 폐쇄막(epithelial tight junction)에서 주로 발현되며, 신세포암종 중 원위세뇨관 기원으로 알려진 협색소성 신세포암종에서 특징적으로 과발현되는 것으로 알려져 있다.^{13,14} 그러나 지금까지 신세포암종 아형 분류에 있어서 claudin-7의 유용성에 관한 연구는 소수에 불과하다.^{25,26}

따라서 본 연구에서는 신세포암종의 대부분을 차지하는 투명세포 신세포암종, 유두상 신세포암종 그리고 협색소성 신세포암종을 대상으로 AMACR과 claudin-7 각각의 발현 양상을 조사하고, 조직학적 분류에 대한 유용성을 연구하였다.

재료 및 방법

연구재료

2000년 2월부터 2008년 12월까지 인제대학교 일산백병원과 삼성서울병원에서 근치적 혹은 부분적 신절제술로 적출된 신세

포암종 중 투명세포 신세포암종, 유두상 신세포암종 및 협색소성 신세포암종으로 진단된 예들을 대상으로 하였다. 이때 모든 예들에 대한 광학현미경적 재관찰을 시행하였고, 광학현미경적 관찰만으로 조직학적 분류가 용이하지 않은 예들은 연구대상에서 제외하였다. 그러나 부분적으로 비전형적인 세포학적 또는 조직학적 소견을 보이는 예들은 연구에 포함하고, 전형적인 부분과 분리하여 관찰하였다. 종양의 병기는 2002 미국 연합 암 위원회 분류(the classification of the American Joint Committee on Cancer)에 준하여 정하였다. 또한 종양의 핵 등급은 Fuhrman grade에 의해 분류하였고, 그 밖의 조직학적 소견으로는 종양의 괴사, 육종성 변화, 신정맥 침투를 관찰하였다.

종양의 전체가 동일한 소견을 보인 90예의 경우는 tissue microarray block을 제작하여 연구에 사용하였다. 광학현미경 관찰을 통하여 종양의 가장 대표적인 부위를 선정하고, 원본 블록에서 지름 2 mm 너비의 조직을 각 층마다 두 개씩 채취한 후 순서대로 배열하여 새로운 미세배열 블록을 제작하였다. 다양한 조직학적 소견을 보이거나 비전형적인 소견을 포함한 14예는 해당 파라핀 원본 포매 블록을 그대로 사용하였다.

면역조직화학염색

3 μ m 조직 절편을 슬라이드에 부착한 후 자일렌으로 탈파라핀시키고, 에틸 알코올에서 단계적으로 탈수하였다. 그 후 항원성 회복을 위하여 미리 가열한 완충액(10 mM citrate, pH 6.0)으로 처리하였으며, 내인성 과산화효소 활성을 억제하기 위해 3%의 과산화수소로 도포하여 처리한 후 다시 인산 완충용액으로 수세하였다. 이때 일차 항체는 CD10 (1:20, Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK), RCC (1:50, Novocastra), CK7 (1:100, Dako, Trappes, France), AMACR (1:100, Dako, Carpinteria, CA, USA), claudin-7 (1:200, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)과 CD117 (1:50, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)을 사용하였다. 그런 다음 상온에서 30분간 일차 항체와 반응시킨 후 완충액으로 세척하고, 이차 항체인 iView DAB Detection Kit (Ventana Medical System, Inc., Tucson, AZ, USA)를 사용하여 30분간 반응시킨 후 Hematoxylin II (Ventana Medical Systems, Inc.)로 대조 염색하고 봉입하였다.

면역조직화학염색 결과 판정

본 연구에 사용된 항체들의 양성 판정 기준은 종양 세포의 10% 이상에서 발현된 경우로 정하였다.^{10,27} 각 항체별 염색 양상에 따라 CD10, RCC와 claudin-7은 종양 세포에서 세포막을 따라 갈색으로 염색된 경우, AMACR과 CD117은 종양 세포에서 세포질에 갈색으로 염색된 경우 그리고 CK7은 세포막 또는 세포질에 갈색으로 염색된 경우를 양성으로 판독하였다.

통계학적 분석

신세포암종의 아형 및 임상, 병리학적 소견에 따른 항체 발현의 차이는 Chi-square test와 Fisher's exact test를 이용하였다. 또한 각 아형에 따른 항체 발현에 대한 다변량 분석을 시행하였으며, 변수 투입 방법은 backward stepwise method를 사용하였다. 통계학적 유의수준은 p값이 0.05 미만인 경우로 하였다.

결 과

조직학적 소견

연구대상 총 104예는 세계 보건 기구에서 정한 신세포암종의 아형 분류 조직학적 기준에 근거할 때 투명세포 신세포암종 54예, 유두상 신세포암종 26예, 혐색소성 신세포암종 24예로 구성되었다(Table 1). 54예의 투명세포 신세포암종 중에서 49예(90.7%)는 투명한 세포질을 갖는 중앙 세포가 파리(alveolar) 모양이나 샘(acinar)모양으로 증식하고 얇은 벽의 혈관이 흔히 관찰되는 전형적인 소견을 보였고, 나머지 5예는 투명세포로 구성되어 있으나, 부분적으로 유두상 성장(papillary growth)을 보이는 부분이 포함되어 있었다. 또한 유두상 신세포암종으로 분류된 26예 모두는 전형적인 유두상 성장(papillary growth)을 보였는데, 그 중 14예에서 섬유혈관중심(fibrovascular core)에서 포말큰포식세포(foamy macrophage)의 군집을 관찰할 수 있었다.

유두상 신세포암종 중 8예는 전반적으로 풍부한 호산성 세포질을 가진 세포들로 구성되어 있었고, 혐색소성 신세포암종 24예는 다각형의 큰 세포들이 두껍고 뚜렷한 세포막과 투명하거나 호산성의 세포질을 가지며 고형(solid) 성장이나 샘모양으로 증식하는 전형적인 소견을 보였다. 또한 특징적인 유리질화(hyalinization)를 동반한 두꺼운 벽을 가진 혈관은 9예(37.5%)

에서 관찰되었다.

AMACR의 면역조직화학염색 소견

AMACR은 세포질 내 과립상의 형태로 발현되었는데, 비중

Table 1. Clinical and pathological features of RCCs

	Clear cell RCC (n = 54)	Papillary RCC (n = 26)	Chromo- phobe RCC (n = 24)
Age (mean \pm SD, yr)	58.4 \pm 12.9	62.4 \pm 9.5	51.7 \pm 9.4
Male : Female ratio	42 : 12	20 : 6	11 : 13
Tumor size (mean \pm SD, cm)	5.3 \pm 3.7	5.6 \pm 3.8	5.3 \pm 3
Fuhrman nuclear grade			
I	0 (0)	1 (3.9)	1 (4.2)
II	32 (59.3)	7 (26.9)	14 (58.3)
III	16 (29.6)	13 (50.0)	9 (37.5)
IV	6 (11.1)	5 (19.2)	0 (0)
T stage			
T1a	23 (42.6)	13 (50.0)	10 (41.7)
T1b	20 (37.0)	4 (15.4)	9 (37.5)
T2	3 (5.6)	5 (19.2)	4 (16.7)
T3a	6 (11.1)	1 (3.9)	1 (4.1)
T3b	0 (0)	3 (11.5)	0 (0)
T4	2 (3.7)	0 (0)	0 (0)
Renal vein invasion			
Yes	5 (9.3)	3 (11.5)	1 (4.2)
No	49 (90.7)	23 (88.5)	23 (95.8)
Sarcomatoid transformation			
Yes	1 (1.9)	1 (3.8)	0 (0)
No	53 (98.1)	25 (96.2)	24 (100)
Tumor necrosis			
Yes	7 (13.0)	3 (11.5)	0 (0)
No	47 (87.0)	23 (88.5)	24 (100)

Values are presented as number (%).
RCC, renal cell carcinoma.

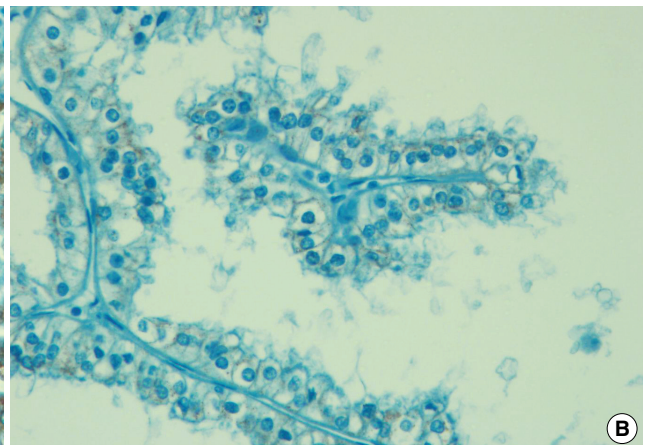
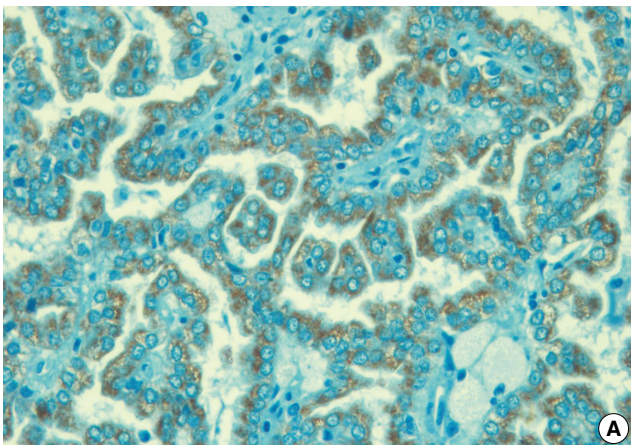


Fig. 1. Alpha-methylacyl-CoA racemase (AMACR) shows a cytoplasmic granular pattern in the renal cell carcinomas (RCCs). (A) Papillary RCC. (B) Clear cell RCC with papillary architecture.

양 조직에서는 주로 근위세뇨관 세포에서 발현되었고, 신세포암종 중에서는 총 46예(44.2%)에서 양성을 나타내었다(Fig. 1A). 각 아형별로는 유두상 신세포암종의 92.3% (24/26), 투명세포 신세포암종의 33.3% (18/54), 혐색소성 신세포암종의 16.7% (4/24)에서 양성이었다(Table 2). 유두상 신세포암종에 대한 발현 민감도는 92.3%, 음성 예측도는 96.6%로 매우 높았으나, 특이도는 71.8%, 양성 예측도는 52.2%로 낮았다. 또한 유두상 신세포암종 8예에서 관찰된 세포질의 호산성 변화와 AMACR 발현 간에는 상관성이 없었고, 부분적으로 유두상 성장을 보인 투명세포 신세포암종(CCRCC with papillary growth) 5예 중 3예의 중앙 세포 50% 이상에서 발현이 관찰되었다(Fig. 1B). 그리고 AMACR 발현과 조사된 모든 병리학적 및 임상적 소견과의 상관성은 없었다.

Claudin-7 면역조직화학염색 소견

Claudin-7은 세포막을 따라 선상으로 발현하는 양상을 보였는데, 비종양 조직에서는 주로 원위세뇨관 세포의 세포막을 따

라 발현하였다. 특히 신세포암종에서는 혐색소성 신세포암종에서 가장 높은 양성률(91.7%, 22/24)을 보였으며, 유두상 신세포암종의 65.4% (17/26)에서도 양성을 나타내었다. 그러나 투명세포 신세포암종 54예 모두는 음성이었다. 혐색소성 신세포암종에 대한 claudin-7 발현의 민감도는 91.7%, 특이도는 78.8%, 양성 예측도는 56.4% 그리고 음성 예측도는 96.9%였다.

Claudin-7의 발현은 혐색소성 신세포암종과 유두상 신세포암종에서 서로 다른 양상을 보였는데, 혐색소성 신세포암종에서는 주로 세포막 전체를 따라 발현되는 양상이었고(Fig. 2A), 유두상 신세포암종에서는 섬유혈관 중심(fibrovascular core)을 따라 배열한 중앙 세포의 세포막 기저부와 양쪽 측면을 따라 발현하였다(Fig. 2B). 또한 혐색소성 신세포암종 중 claudin-7에 음성인 2예의 병리학적 소견은 양성을 보인 나머지 예들과 큰 차이를 보이지 않았으며, claudin-7에 양성으로 발현한 유두상 신세포암종 17예는 조직학적으로 전형적인 소견을 보였다. 또한 claudin-7 발현과 조사된 모든 병리학적 및 임상적 소견과의 상관성은 없었다.

CD10, RCC, CK7, CD117의 면역조직화학염색 소견

Table 2. Results of the immunohistochemical staining according to different types of RCCs

	Clear cell RCC (n = 54)	Papillary RCC (n = 26)	Chromophobe RCC (n = 24)	p-value
AMACR	18 (33.3)	24 (92.3)	4 (16.7)	< 0.0001
Claudin-7	0 (0)	17 (65.4)	22 (91.7)	< 0.0001
CD10	44 (81.5)	13 (50)	11 (45.8)	0.0079
RCC	37 (68.5)	11 (42.3)	0 (0)	< 0.0001
CK7	3 (5.6)	20 (76.9)	19 (79.2)	< 0.0001
CD117	0 (0)	14 (53.9)	21 (87.5)	< 0.0001

Values are presented as number (%).

RCC, renal cell carcinoma; AMACR, alpha-methylacyl-CoA racemase; CK, cytokeratin.

CD10의 양성률을 각 아형별로 살펴보면 투명세포 신세포암종에서 81.5% (44예), 유두상 신세포암종에서 50% (13예), 혐색소성 신세포암종에서 45.8% (11예)였다. RCC는 투명세포 신세포암종의 68.5% (37예)와 유두상 신세포암종의 42.3% (11예)에서 양성을 보였으나, 혐색소성 신세포암종에서는 모두 음성이었다. CK7은 유두상 신세포암종과 혐색소성 신세포암종에서 각각 76.9%와 79.2%의 높은 양성률을 보였으나, 투명세포 신세포암종에서는 3예(5.6%)에서만 양성이었으며, 유두상 성장을 보인 5예는 모두 음성이었다. 또한 CD117은 투명세포 신세포암종에서는 모두 음성이었으나, 유두상 신세포암종은 14예(53.9%), 혐색소성 신세포암종은 21예(87.5%)에서 양성이었다

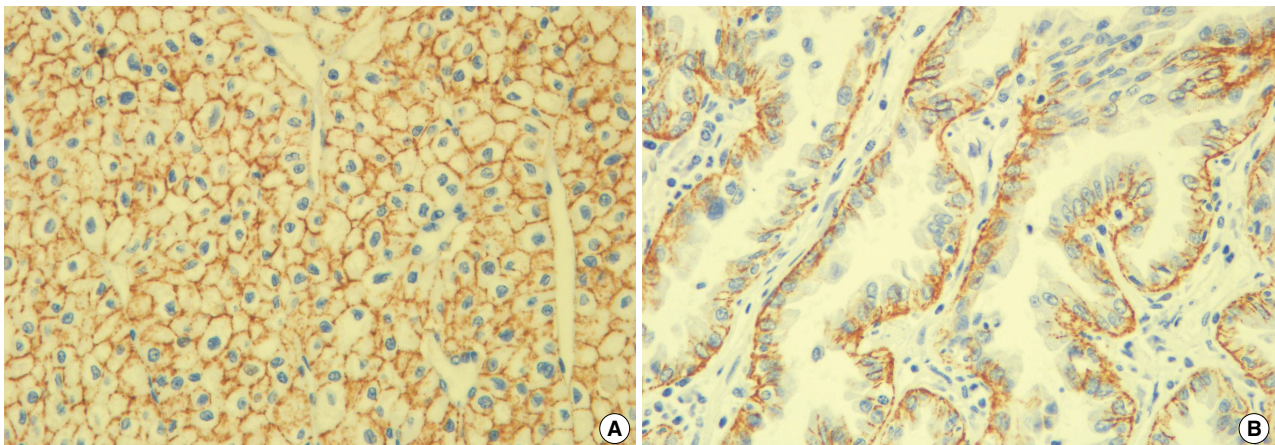


Fig. 2. Claudin-7 expression in the renal cell carcinoma (RCCs). (A) The chromophobe RCC reveals a diffuse membranous expression. (B) Papillary RCC shows a positive expression in the basal and lateral borders.

Table 3. Diagnostic value of the immunohistochemical panel

	Sensi- tivity	Speci- ficity	PPV	NPV
Claudin-7(-)/CK7(-)/CD117(-) for CCRCC	96.3	98.0	98.1	96.1
AMACR(+)/CK7(+) for PRCC	65.4	94.9	81.0	89.2
Claudin-7(+)/AMACR(-) for ChRCC	79.2	96.3	86.4	93.9

Values are presented as percentage.

PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; CK, cytokeratin; CCRCC, clear cell renal cell carcinoma; AMACR, alpha-methylacyl-CoA racemase; PRCC, papillary renal cell carcinoma; ChRCC, chromophobe renal cell carcinoma.

(Table 2).

조직학적 분류에 따른 면역화학조직염색 결과

본 연구에 쓰인 항체들의 발현을 단일 변수로 비교 분석했을 때 모든 항체가 신세포암종의 아형에 따라 통계적으로 유의한 차이를 보였는데, 투명세포 신세포암종에서는 CD10과 RCC가, 유두상 신세포암종에서는 AMACR과 CK7이 그리고 협색소성 신세포암종에서는 claudin-7과 CD117이 가장 높은 양성률을 보였다. 한편 다변량 분석을 통해 각 아형별로 유의한 발현의 차이를 보인 항체들을 조사한 결과, 투명세포 신세포암종에서는 의미 있는 양성 발현 항체는 없었고, CK7, claudin-7 및 CD117의 음성 발현이 유의한 독립 변수였다. 또한 유두상 신세포암종에서는 CK7과 AMACR의 양성 발현이, 협색소성 신세포암종에서는 claudin-7의 양성 발현과 AMACR의 음성 발현이 통계적으로 유의한 독립 변수였다. 또한 각 아형별로 유의한 차이를 보이는 것으로 밝혀진 항체를 조합하여 panel로 적용하였을 때, claudin-7(-)/CK7(-)/CD117(-)는 투명세포 신세포암종에 대하여 민감도 96.3%, 특이도 98%, 양성 예측도 98.1% 그리고 96.1%의 음성 예측도를 보였고, AMACR(+)/CK7(+)는 유두상 신세포암종에 대하여 민감도 65.4%, 특이도 94.9%, 양성 예측도 81% 그리고 89.2%의 음성 예측도를 보였으며, 협색소성 신세포암종에 대하여 claudin-7(+)/AMACR(-)를 사용했을 때 민감도는 79.2%, 특이도는 96.3%, 양성 예측도는 86.4% 그리고 음성 예측도는 93.9%였다(Table 3).

고 찰

투명세포 신세포암종, 유두상 신세포암종, 협색소성 신세포암종은 각각의 조직학적 특징이 잘 기술되어 있으나, 조직 소견만으로는 구분이 어려운 경우가 있다. 특히 투명세포 신세포암종과 유두상 신세포암종의 특징을 함께 보이거나, 중앙 세포가 전반적으로 호산과립세포 변화(oncocytic change)를 보이는 경우 그리고 전반적으로 고형성 성장을 보이는 경우에 신세포암종 아

형 분류가 어렵다.⁴⁻⁷ 이러한 경우 많은 수의 조직 블록을 제작하여 면밀하게 관찰하거나 면역조직화학염색을 추가적으로 시행함으로써 분류의 정확도를 향상시킬 수 있다.⁷

본 연구에서는 최근에 보고된 AMACR과 claudin-7 및 아형 분류에 유용하다고 알려진 항체들, CD10, RCC, CK7, CD117의 발현을 조사하고 신세포암종의 조직학적 아형 분류에 대한 유용성을 연구하였다. 본 연구 결과에 따르면 AMACR과 claudin-7은 각각 유두상 신세포암종과 협색소성 신세포암종에 대하여 높은 민감도를 보였지만, 낮은 특이도와 양성 예측도 때문에 아형 분류에 이용하는 데는 제한이 있었다. 따라서 이를 보완하기 위해 유두상 신세포암종에 CK7, 협색소성 신세포암종에 AMACR을 함께 적용한 결과, 특이도와 양성 예측도가 모두 향상되는 결과를 얻었다. 결론적으로 유두상 신세포암종의 경우 AMACR은 CK7과, 협색소성 신세포암종의 경우 claudin-7과 AMACR을 함께 시행함으로써 진단적 유용성을 높일 수 있다고 생각한다.

2003년 Takahashi 등²⁷이 처음으로 유두상 신세포암종에서 AMACR이 선택적으로 과발현됨을 보고한 이후 Molinié 등¹¹은 110예의 신장종양을 대상으로 발현 양상을 조사하여 유두상 신세포암종, 투명세포 신세포암종 및 협색소성 신세포암종에서 각각 96.4% (53/55), 20% (5/25), 0% (0/6)의 양성률을 보고하였다. 또한 Tretiakova 등¹²은 비슷한 연구를 통하여 유두상 신세포암종에서 100% (41/41), 투명세포 신세포암종에서 25% (13/52), 협색소성 신세포암종에서는 0% (0/18)의 양성률을 보고하였다. 본 연구의 결과도 앞선 연구들의 결과와 비슷하게 유두상 신세포암종과 투명세포 신세포암종에서는 각각 92.3%와 33.3%의 양성률을 보였으나, 협색소성 신세포암종 24예 중 4예(16.7%)에서 양성을 보여 차이점을 나타내었다. 그러나 본 연구에서 이용된 협색소성 신세포암종의 수가 가장 많고, 조직학적으로 전형적인 예들만을 선별하였으므로 소수의 협색소성 신세포암종에서는 AMACR이 발현될 가능성이 있다고 볼 수 있다.

CK7은 유두상 신세포암종 진단에 도움을 주는 항체로 널리 이용되어 왔다. 본 연구에서 유두상 신세포암종에 대한 CK7 발현의 민감도는 76.9%, 양성 예측도는 47.6%, 음성 예측도는 90.3%로 AMACR의 민감도(92.3%), 양성 예측도(52.2%), 음성 예측도(96.6%)보다 낮았고, 특이도(71.8%)는 같았다. 따라서 유두상 신세포암종의 진단에 CK7보다 AMACR이 더 유용하다는 결과를 얻을 수 있었다.

Gobbo 등⁴은 유두상 성장과 투명세포를 모두 보이는 신세포암종들을 대상으로 AMACR과 CK7의 면역조직화학염색 결과 그리고 세포유전학검사 결과를 비교한 결과, 두 항체 모두 양성인 예들의 88.9%가 유두상 신세포암종으로, 음성인 예들 모두는 투명세포 신세포암종으로 분류됨으로써 유두상 신세포암종과 투명세포 신세포암종의 감별이 어려운 경우 이 두 가지 면역염색을 병행하여 사용하는 것이 유용함을 제안하였다. 특히 본 연구에 포함되었던 유두상 성장을 보이는 투명세포암종 5예 중 3

예에서 AMACR은 양성이었으나, CK7에는 5예 모두 음성이었던 점을 고려할 때 투명세포 신세포암종과 유두상 신세포암종의 구분이 어려운 경우에는 AMACR과 CK7를 병행하여 사용하는 것이 감별 진단에 더욱 도움이 되는 것으로 생각된다.

Schuetz 등²⁸이 claudin-7 mRNA가 협색소성 신세포암종에서 특이적으로 과발현됨을 보고하였고, Hornsby 등¹⁴은 면역조직화학염색 연구를 통하여 claudin-7이 협색소성 신세포암종 진단에 유용한 표지자로 사용될 수 있음을 보고하였다. 또한 Choi 등²⁵은 협색소성 신세포암종 진단에 대한 claudin-7의 민감도가 95%, 특이도가 92.3%로 기존에 협색소성 신세포암종의 진단에 유용한 표지자로 소개되었던 parvalbumin의 민감도 80%, 특이도 88.9%보다 높다고 보고하였다. 그러나 연구에 포함되었던 유두상 신세포암종의 34.5% (10/29)에서 claudin-7이 양성이었던 점은 claudin-7이 협색소성 신세포암종과 유두상 신세포암종의 감별에는 제한이 될 수 있음을 시사한다. 또한 Li 등²⁶의 연구에서도 claudin-7이 유두상 신세포암종의 90%에서 발현됨을 보고한 바 있다.

본 연구 결과 투명세포 신세포암종에서는 claudin-7이 전혀 발현되지 않아서 투명세포 신세포암종의 감별에는 많은 도움이 될 것으로 사료되나, 유두상 신세포암종에서는 65.4%의 높은 양성률을 보여 협색소성 신세포암종과 유두상 신세포암종의 감별에는 제한이 있을 것으로 생각되었다. 또한 협색소성 신세포암종에 대한 claudin-7의 민감도(91.7%)와 음성 예측도(96.9%)는 또 다른 협색소성 신세포암종의 표지자로 알려진 CD117의 민감도(87.5%)와 음성 예측도(95.6%)에 비해서 높았으나, 특이도(claudin-7, 78.8%; CD117, 82.5%)와 양성 예측도(claudin-7, 56.4%; CD117, 60%)는 다소 낮아서 큰 차이를 보이지 않았다.

본 연구에서 사용된 CD10, RCC, CK7 및 CD117은 앞선 연구들에서 신세포암종의 아형을 감별하는 데 도움이 되는 것으로 알려진 항체들이다. 그 밖에도 vimentin, EMA, E-cadherin, CK AE1/AE3, low-molecular-weight cytokeratin (LMWCK), high-molecular-weight cytokeratin (HMWCK), parvalbumin과 같이 많은 면역항체들이 신세포암종의 아형을 감별하는 데 사용된 바 있다.⁸ 한편 앞선 여러 연구들에서 각각의 항체 사용 시의 단점을 보완할 수 있는 여러 항체들을 조합한 면역조직화학염색 panel을 제안한 바 있다. Allory 등¹⁰은 309예의 신세포암종을 대상으로 RCC, vimentin, CK AE1/AE3, CK7, CD10, EMA, AMACR, CD117, E-cadherin, bcl-2, aquaporin-1, mucin-1 등 모두 12가지의 항체들을 염색한 결과를 바탕으로, 효과적인 아형을 분류할 수 있는 면역조직화학염색 panel로서 AMACR, CK7, CD10의 조합을 제안하였는데, 이 조합을 이용할 경우 민감도는 투명세포 신세포암종에서 86.3%, 유두상 신세포암종에서 86.8% 그리고 협색소성 신세포암종에서 78.7%라고 보고하였다. 또한 Pan 등⁹은 328예의 신장종양을 대상으로 12개의 항체(Pan-CK, HMWCK, LMWCK, CK7, EMA,

MOC31, BerEP4, RCC, CD10, E-cadherin, CD15, vimentin)의 발현을 연구하여 그 중 MOC31, BerEP4, RCC, CD10의 조합이 가장 유용함을 보고하였는데, 이 조합을 이용한 경우 투명세포 신세포암종에 대한 민감도는 59%, 특이도는 93%, 유두상 신세포암종에 대한 민감도는 51%, 특이도는 89%, 협색소성 신세포암종에 대한 민감도는 82%, 특이도는 96%라고 보고하였다. 본 연구에서 사용된 AMACR과 claudin-7은 각각 유두상 신세포암종과 협색소성 신세포암종에 대해 가장 높은 발현율을 보였던 민감도 높은 표지자이지만, 특이도와 양성 예측도가 낮은 점은 다른 아형과의 감별에는 제한점으로 생각되었다. 그러나 유두상 신세포암종에 대해서는 AMACR과 더불어 CK7을 적용할 경우, 특이도와 양성 예측도가 94.9%와 81%로 향상되었으며, 협색소성 신세포암종의 경우에도 claudin-7과 AMACR을 함께 적용하는 경우 특이도는 96.3%, 양성 예측도는 86.4%로 증가되었다.

본 연구 결과를 종합하면 최근에 그 유용성이 보고된 AMACR과 claudin-7은 유두상 신세포암종과 협색소성 신세포암종에서 통계학적으로 유의하게 높은 발현율을 보였으나, 단독으로 사용하는 것보다는 panel로 적용하는 것이 조직학적 아형 분류에 더 유용하다는 것을 알 수 있었다. 한편 본 연구에 사용된 항체들을 대상으로 각 아형별로 가장 유용성이 높은 panel을 살펴보면, 투명세포 신세포암종에는 claudin-7(-)/CK7(-)/CD117(-), 유두상 신세포암종에는 AMACR(+)/CK7(+) 그리고 협색소성 신세포암종에는 claudin-7(+)/AMACR(-)이었다.

본 연구는 AMACR과 claudin-7을 함께 이용한 최초의 연구이며, 각 아형별로 제안된 가장 유용한 항체의 panel에 이 두 가지 면역염색이 모두 포함됨으로써 조직학적 분류에 유용하다는 결론을 얻을 수 있었다. 그러나 본 연구에는 포함되지 않았던 다른 항체들(vimentin, E-cadherin, parvalbumin 등)을 적용할 경우 panel 조합에 변화가 있을 가능성을 배제할 수 없으며, 신세포암종은 아니지만 협색소성 신세포암종과 감별이 매우 어려운 호산과립세포종이 연구에서 제외된 점은 본 연구의 제한점이라고 할 수 있다. 따라서 추후 다른 항체들과 호산과립세포종을 포함한 연구도 흥미로울 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Lopez-Beltran A, Scarpelli M, Montironi R, Kirkali Z. 2004 WHO classification of the renal tumors of the adults. *Eur Urol* 2006; 49: 798-805.
2. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and Cotran: pathologic basis of disease. 8th ed. Philadelphia: Saunders-Elsevier, 2010; 964-5.
3. Letang N, Cabaniols L, Pouessel D, et al. Prognostic factors in renal cell carcinoma. *Bull Cancer* 2009; 96: 475-84.

4. Gobbo S, Eble JN, MacLennan GT, *et al.* Renal cell carcinomas with papillary architecture and clear cell components: the utility of immunohistochemical and cytogenetical analyses in differential diagnosis. *Am J Surg Pathol* 2008; 32: 1780-6.
5. Mai KT, Kohler DM, Roustan Delatour NL, Veinot JP. Cytohistopathologic hybrid renal cell carcinoma with papillary and clear cell features. *Pathol Res Pract* 2006; 202: 863-8.
6. Abrahams NA, Tamboli P. Oncocytic renal neoplasms: diagnostic considerations. *Clin Lab Med* 2005; 25: 317-39.
7. Kümmerlin I, ten Kate F, Smedts F, *et al.* Diagnostic problems in the subtyping of renal tumors encountered by five pathologists. *Pathol Res Pract* 2009; 205: 27-34.
8. Zhou M, Roma A, Magi-Galluzzi C. The usefulness of immunohistochemical markers in the differential diagnosis of renal neoplasms. *Clin Lab Med* 2005; 25: 247-57.
9. Pan CC, Chen PC, Ho DM. The diagnostic utility of MOC31, BerEP4, RCC marker and CD10 in the classification of renal cell carcinoma and renal oncocytoma: an immunohistochemical analysis of 328 cases. *Histopathology* 2004; 45: 452-9.
10. Allory Y, Bazille C, Vieillefond A, *et al.* Profiling and classification tree applied to renal epithelial tumours. *Histopathology* 2008; 52: 158-66.
11. Molinié V, Balaton A, Rotman S, *et al.* Alpha-methyl CoA racemase expression in renal cell carcinomas. *Hum Pathol* 2006; 37: 698-703.
12. Tretiakova MS, Sahoo S, Takahashi M, *et al.* Expression of alpha-methylacyl-CoA racemase in papillary renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2004; 28: 69-76.
13. Osunkoya AO, Cohen C, Lawson D, Picken MM, Amin MB, Young AN. Claudin-7 and claudin-8: immunohistochemical markers for the differential diagnosis of chromophobe renal cell carcinoma and renal oncocytoma. *Hum Pathol* 2009; 40: 206-10.
14. Hornsby CD, Cohen C, Amin MB, *et al.* Claudin-7 immunohistochemistry in renal tumors: a candidate marker for chromophobe renal cell carcinoma identified by gene expression profiling. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131: 1541-6.
15. Amery L, Fransen M, De Nys K, Mannaerts GP, Van Veldhoven PP. Mitochondrial and peroxisomal targeting of 2-methylacyl-CoA racemase in humans. *J Lipid Res* 2000; 41: 1752-9.
16. Ferdinandusse S, Denis S, IJlst L, Dacremont G, Waterham HR, Wanders RJ. Subcellular localization and physiological role of alpha-methylacyl-CoA racemase. *J Lipid Res* 2000; 41: 1890-6.
17. Schmitz W, Fingerhut R, Conzelmann E. Purification and properties of an alpha-methylacyl-CoA racemase from rat liver. *Eur J Biochem* 1994; 222: 313-23.
18. Luo J, Zha S, Gage WR, *et al.* Alpha-methylacyl-CoA racemase: a new molecular marker for prostate cancer. *Cancer Res* 2002; 62: 2220-6.
19. Zhou M, Chinnaiyan AM, Kleer CG, Lucas PC, Rubin MA. Alpha-Methylacyl-CoA racemase: a novel tumor marker over-expressed in several human cancers and their precursor lesions. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 926-31.
20. Jiang Z, Fanger GR, Woda BA, *et al.* Expression of alpha-methylacyl-CoA racemase (P504s) in various malignant neoplasms and normal tissues: a study of 761 cases. *Hum Pathol* 2003; 34: 792-6.
21. Tsukita S, Furuse M, Itoh M. Multifunctional strands in tight junctions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2: 285-93.
22. Huo Q, Kinugasa T, Wang L, *et al.* Claudin-1 protein is a major factor involved in the tumorigenesis of colorectal cancer. *Anticancer Res* 2009; 29: 851-7.
23. Ohtani S, Terashima M, Satoh J, *et al.* Expression of tight-junction-associated proteins in human gastric cancer: downregulation of claudin-4 correlates with tumor aggressiveness and survival. *Gastric Cancer* 2009; 12: 43-51.
24. Comper F, Antonello D, Beghelli S, *et al.* Expression pattern of claudins 5 and 7 distinguishes solid-pseudopapillary from pancreaticatoblastoma, acinar cell and endocrine tumors of the pancreas. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 768-74.
25. Choi YD, Kim KS, Ryu S, *et al.* Claudin-7 is highly expressed in chromophobe renal cell carcinoma and renal oncocytoma. *J Korean Med Sci* 2007; 22: 305-10.
26. Li L, Yao JL, di Sant'agnese PA, *et al.* Expression of claudin-7 in benign kidney and kidney tumors. *Int J Clin Exp Pathol* 2008; 1: 57-64.
27. Takahashi M, Yang XJ, Sugimura J, *et al.* Molecular subclassification of kidney tumors and the discovery of new diagnostic markers. *Oncogene* 2003; 22: 6810-8.
28. Schuetz AN, Yin-Goen Q, Amin MB, *et al.* Molecular classification of renal tumors by gene expression profiling. *J Mol Diagn* 2005; 7: 206-18.