

세포병리검사에서 쓸개관암종의 IMP3 발현과 진단적 가치

양정욱 · 이종실 · 김동출 · 송대현
고경혁 · 이정희

경상대학교 의학전문대학원 병리학교실

IMP3 Expression of the Cholangiocarcinoma in Cytology Specimen and Its Diagnostic Value

Jung Wook Yang · Jong Sil Lee · Dong Chul Kim · Dae Hyun Song
Gyung Hyuck Ko · Jeong-Hee Lee

Department of Pathology, Gyeongsang National University School of Medicine, Jinju, Korea

접 수 : 2010년 4월 27일
게재승인 : 2010년 10월 18일

책임저자 : 이 정 희
우 660-751 경남 진주시 칠암동 92
경상대학교 의학전문대학원 병리학교실
전화: +82-55-751-8762
Fax: +82-55-759-7952
E-mail: jhlee7@gnu.ac.kr

*본 논문은 2005년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. R13-2005-012-02001-0).

Background : Pathologists occasionally have difficulty in distinguishing cholangiocarcinoma from benign reactive cells on the biliary cytology. We estimated the diagnostic value of insulin-like growth factor II mRNA binding protein 3 (IMP3) on biliary cytology specimens. **Methods :** We selected 40 patients who had undergone a biliary cytology examination and whose diagnoses were confirmed by biopsy. The IMP3 expression was evaluated by immunohistochemical staining in both the tissue and the cytology specimens. Their histologic diagnoses were cholangiocarcinoma (n = 34), high grade dysplasia (n = 2), low grade dysplasia (n = 1) and non-biliary tumor or no tumor (n = 3). **Results :** On the histology, all the cases of cholangiocarcinoma or high grade dysplasia were positive for IMP3 (36/36). The low grade dysplasia or the normal bile ducts in the other 4 cases were negative for IMP3 (0/4). Of the 36 cases diagnosed as cholangiocarcinoma or high grade dysplasia histologically, 29 cases were positive for IMP3 on the cytology (29/36; sensitivity, 80.6%). Of the 4 cases without cholangiocarcinoma or high grade dysplasia, 1 case was weakly positive for IMP3 on the cytology. The histologic diagnosis of this case was hepatocellular carcinoma. Except for this hepatocellular carcinoma case, the specificity of IMP3 on the cytology was 100%. **Conclusions :** IMP3 is a useful diagnostic marker for cholangiocarcinoma on cytology.

Key Words : IMP-3 protein, human; Cholangiocarcinoma; Cytology

쓸개관 상피세포는 피부간경유쓸개즙배액술(percutaneous transhepatic biliary drainage)이나 내시경코쓸개즙배액술(endoscopic nose biliary drainage)을 통해 배출된 쓸개즙에서 얻거나, 내시경역행쓸개이자조영술(endoscopic retrograde cholangiopancreatography) 중 솔질(brushing)을 통해서 얻을 수 있다.

쓸개관 상피세포를 이용한 세포검사는 쓸개관암종의 진단에 유용한 방법 중 하나지만, 세포검사에서 반응성 변화로 인한 비정형세포 또는 저등급 형성이상 세포를 고분화 암종세포와 구별하는 것이 어려워 쓸개관암종의 진단에 어려움을 겪기도 한다.

Insulin-like growth factor II mRNA binding protein (IMP) family는 주요 태아성장인자로서 IMP1, IMP2, IMP3로 구성되는데¹ 이 IMP는 대부분 세포질에 존재하며 insulin-like growth factor II leader3 mRNA와 H19 RNA에 결합한다. IMP는 구조적으로 두 개의 RNA recognition motifs (RRMs)와 네

개의 hnRNP K homology (KH) domains로 이루어져 있다. KH domain을 가진 단백질은 mRNA의 안정성 조절과 세포 내 배치에 관여하는데² IMP는 mRNA에 결합하여 mRNA를 안정화시키고, mRNA를 운반하여 세포의 특정 부위에 모이게 한다. 이러한 과정은 배아 발달과 관련이 있으며,³ IMP3는 생쥐에서 발생단계의 상피, 근육, 태반에서는 관찰되지만 성장한 생쥐의 정상 조직에서는 약하게 또는 아예 발현되지 않는다.⁴ 또한 IMP3는 암 형성 시 세포의 부착과 침투, 그리고 침습위족(invadopodia) 형성과 관련이 있는 것으로 밝혀져,³ 여러 종류의 암에서 IMP3 발현 여부에 대한 연구가 진행되고 있다.

또한 IMP3는 쓸개관암종⁵을 비롯하여 이자샘암종,⁶ 폐샘암종,⁷ 침습유방암종,⁸ 갈록창자암종,⁹ 난소암종,¹⁰ 식도샘암종,¹¹ 신세포암종,¹² 고등급 요로상피세포종양,¹³ 그리고 간세포암종¹⁴에서 발현된다고 보고되어 있으며, 암종뿐 아니라 뼈육종,¹⁵ 악성종피

중,¹⁶ 악성흑색종¹⁷에도 발현된다는 보고가 있다. 언급된 대부분의 암들에서 IMP3의 발현은 나쁜 예후 또는 조직학적 등급과 관련이 있었다.^{5-9,12,14,15} 특히 식도샘암종, 고등급 요로상피종양, 악성중피종, 그리고 악성흑색종에서는 IMP3가 정상 또는 양성 종양과 악성 종양을 구분하는 데 좋은 생물학적 표지자로서 언급되기도 했다.^{11,13,16,17}

본 연구에서는 IMP3 면역염색이 쓸개즙 세포병리검사에서 쓸개관암종의 진단에 도움이 되는지를 알아보려고 하였다. 2008년도에 Ligato 등¹⁸은 쓸개관 수술 세포 검사에서 IMP3 면역염색이 이자쓸개관 악성 종양 진단의 민감도를 향상시킨다고 보고하였는데, Ligato 등¹⁸은 이자 및 쓸개관에 생긴 암종을 대상으로 세포 검체에만 염색을 시행하고 조직에는 염색을 시행하지 않았다. 따라서 본 연구에서는 쓸개즙 세포병리검사를 시행받고 내시경생검, 침생검 또는 절제생검으로 진단을 확정받은 환자를 대상으로 조직과 쓸개즙 검체 모두에 IMP3 면역화학염색을 하였다. 그리고 조직 검체에 시행한 면역염색을 통하여 정상 쓸개관, 반응성 변화 또는 형성이상이 있는 쓸개관세포, 그리고 쓸개관암종세포에서 IMP3의 발현을 비교 분석한 뒤 IMP3가 쓸개즙 세포병리검사에서 쓸개관암종의 진단에 도움이 되는지를 알아보았다.

재료 및 방법

연구 대상

1995년 1월부터 2000년 12월까지 경상대학교병원에서 쓸개즙 세포병리검사를 시행받은 환자 550명 중 조직 생검이 행해지지 않은 증례, 방사선 소견에서 악성 종양이 의심되지만, 침생검에서 음성으로 나온 증례, 그리고 진단적인 세포가 없는 증례를 제외한 54예를 선택하여 연구를 진행하였다. 또 추가로 조직의 경우 면역염색을 할 슬라이드 외에 헤마톡실린-에오신 염색 슬라이드를 별도로 제작하여 병터가 소진된 생검 표본을 제외하였고, 세포의 경우에는 염색과정에서 진단적 세포가 탈락한 경우도 제외하였다.

세포 검체의 경우 세포 불력이 있는 증례는 세포 불력을 사용하였는데, 최종적으로 연구에 사용된 증례는 40예였다(Table 1). 이 40예의 조직학적 진단은 쓸개관암종 34예, 쓸개관 고등급 형성이상 2예, 쓸개관 저등급 형성이상 1예, 간속돌 1예, 간세포암종 2예였다. 조직 검체의 채취 부위는 온쓸개이자관팽대(3예), 온쓸개관(19예), 간밖쓸개관(1예), 간속쓸개관(14예) 그리고 쓸개(3예)였으며, 조직 검체의 진단은 World Health Organization classification of tumors를 따랐다.¹⁹

각 조직 진단에 대한 세포 진단을 요약하면 다음과 같다. 조직검사에서 쓸개관암종으로 진단받은 34예에 대한 세포 진단은 샘암종 9예, 악성 의심 21예, 반응성 변화 3예, 음성 1예였다.

그리고 쓸개관 고등급 형성이상 2예에 대한 세포 진단은 모두 악성 의심이었으며, 쓸개관 저등급 형성이상은 세포검사에서 악성 의심으로 진단받았고, 간속돌은 음성으로, 간세포암종 2예는 모두 반응성 변화로 진단받았다.

본 실험은 Institutional Review Board (IRB)의 승인을 받았으며, 오래된 파라핀 블록과 세포 검체를 대상으로 하였기 때문에 환자의 동의서는 받지 않았다.

면역조직화학염색

조직 검체는 10% 포르말린에 고정된 후 제작된 파라핀 블록을 두께 3 μ m 절편으로 박절하여 사용하였다. 항원 복구를 위하여 완충용액은 Tris-EDTA (pH 9.0)를 사용하였으며, PT module (Lab Vision, Fremont, CA, USA)을 사용하여 가열 처리하였다. 이때 가열 과정은 제조사에서 제시하는 방법을 따랐다. 또한 내인성 과산화효소를 억제하기 위해 3% 과산화수소로 10분간 반응시킨 후 Tris 완충용액(Tris buffered saline, pH 7.4)으로 세척하였으며, 면역염색에는 UltraVision LP Detection System HRP Polymer and DAB plus chromogen kit (Lab Vision)를 사용하였는데, 염색 방법은 제조사에서 제시하는 방법을 따랐다.

일차항체는 항-IMP3 단클론 생쥐 항체(1:100, clone 69.1, Dako, Glostrup, Denmark)를 사용하였으며, 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 그리고 3,3'-diaminobenzidine (DAB, 1:50)로 5분간 실온에서 반응시켜 발색시키고 Harris hematoxylin으로 대조 염색하여 permount (Fisher Scientific, Bridgewater, NJ, USA)로 봉입하였다.

세포 검체는 진단적 세포가 있는 부분을 미리 다이아몬드펜으로 표시한 뒤 탈색하여 사용하였다. 이때 알코올에 고정시켜 Papanicolaou 염색을 한 슬라이드에서 커버 슬라이드를 벗기기 위해 xylene에 24-48시간 동안 두었다가 커버 슬라이드를 벗긴 뒤 알코올로 흡수시켰다. 그 후 0.5% hydrogen chloride (HCl)에 30초 정도 두어 탈색시키고, 광학현미경으로 탈색 여부를 확인했다. 그리고 항원 복구를 포함한 이후 과정은 조직절편의 과정과 똑같이 시행하였다.

면역조직화학염색 결과 판정

IMP3는 종양세포의 세포질 내에서 비교적 균질하게 염색되었는데, IMP3의 발현 유무는 종양세포의 5% 미만에서 발현되는 경우를 음성, 5% 이상에서 발현되는 경우를 양성으로 판정하였다. 그동안 IMP3 염색 강도 평가를 4단계로 구분한 경우는 있었으나,⁵ 평가 기준에 대해 자세히 언급되어 있지는 않았다. 그리하여 본 연구에서는 40배에서 잘 보이면 중양성, 진하게 보이면 강양성, 그리고 연하게 보이면 약양성으로 판정하였다(Fig. 1). 또 같은 종양 내에서 염색 강도가 다양한 경우는 차지하는

Table 1. Comparison of the IMP3 expression on the cytology and on the histology specimens

No.	Age	Sex	Site	Cytologic diagnosis	IMP3 (cell)	Histologic diagnosis	IMP3 (tissue)	Bx method
EHD and GB								
1	71	M	CBD	Adenocarcinoma	Strong	Adenocarcinoma, W/D	Strong	EBx
2	58	F	AOF	Adenocarcinoma	Strong	Adenocarcinoma, W/D	Moderate	EBx
3	76	F	EHD	Adenocarcinoma	Moderate	Adenocarcinoma, W/D	Strong	EBx
4	74	F	CBD	Adenocarcinoma	Moderate	Adenocarcinoma, W/D	Moderate	PPPD
5	48	M	CBD	Adenocarcinoma	Moderate	Adenocarcinoma, W/D	Moderate	EBx
6	67	F	CBD	Adenocarcinoma	Moderate	Adenocarcinoma, W/D	Strong	PPPD
7	56	M	CBD	Adenocarcinoma	Weak	Adenocarcinoma, P/D	Moderate	EBx
8	75	M	CBD	Adenocarcinoma	Weak	Adenocarcinoma, P/D	Strong	EBx
9	66	M	CBD	Adenocarcinoma	Negative	Adenocarcinoma, P/D	Strong	EBx
10	41	F	CBD	Suspicious malignancy	Strong	Adenocarcinoma, P/D	Strong	EBx
11	83	F	CBD	Suspicious malignancy	Strong	Adenocarcinoma, M/D	Strong	PPPD
12	67	M	CBD	Suspicious malignancy	Strong	Adenocarcinoma, W/D	Strong	PPPD
13	74	M	CBD	Suspicious malignancy	Strong	Adenocarcinoma, W/D	Moderate	EBx
14	67	M	CBD	Suspicious malignancy	Strong	Adenocarcinoma, W/D	Moderate	Resection
15	64	F	AOF	Suspicious malignancy	Strong	Adenocarcinoma, P/D	Strong	EBx
16	83	F	GB	Suspicious malignancy	Strong	Adenocarcinoma, M/D	Strong	Resection
17	78	M	CBD	Suspicious malignancy	Moderate	Adenocarcinoma, P/D	Strong	Bx via PTBD
18	69	F	CBD	Suspicious malignancy	Moderate	Adenocarcinoma, P/D	Moderate	EBx
19	68	M	CBD	Suspicious malignancy	Moderate	Adenocarcinoma, M/D	Moderate	EBx
20	88	F	CBD	Suspicious malignancy	Moderate	Adenocarcinoma, W/D	Strong	EBx
21	74	M	CBD	Suspicious malignancy	Weak	Adenocarcinoma, P/D	Strong	Bx via PTBD
22	73	M	AOF	Suspicious malignancy	Weak	Adenocarcinoma, M/D	Moderate	EBx
23	61	M	Cystic duct (GB)	Suspicious malignancy	Weak	Adenocarcinoma, W/D	Moderate	Resection
24	70	F	CBD	Suspicious malignancy	Negative	Adenocarcinoma, M/D	Moderate	EBx
25	64	M	GB	Suspicious malignancy	Negative	Adenocarcinoma, P/D	Strong	Resection
26	65	F	CBD	Favor reactive	Moderate	Adenocarcinoma, M/D	Moderate	PPPD
IHD								
27	50	M	Liver (IHD)	Suspicious malignancy	Strong	Adenocarcinoma, P/D	Strong	NBx
28	63	M	Liver (IHD)	Suspicious malignancy	Strong	Adenocarcinoma, M/D	Strong	NBx
29	74	M	Liver (IHD)	Suspicious malignancy	Strong	Adenocarcinoma, W/D	Weak	NBx
30	63	M	Liver (IHD)	Suspicious malignancy	Strong	Adenocarcinoma, W/D	Strong	EBx
31	76	M	IHD	Suspicious malignancy	Strong	High grade dysplasia	Moderate	Bx via PTBD
32	48	M	IHD	Suspicious malignancy	Moderate	High grade dysplasia	Moderate	Bx via PTBD
33	60	M	Liver (IHD)	Suspicious malignancy	Negative	Adenocarcinoma, W/D	Moderate	NBx
34	61	M	Liver (IHD)	Suspicious malignancy	Negative	Low grade dysplasia	Negative	Resection
35	56	M	Liver (IHD)	Favor reactive	Weak	Hepatocellular carcinoma	Negative	Resection
36	51	F	Liver (IHD)	Favor reactive	Negative	Adenocarcinoma, P/D	Moderate	NBx
37	49	M	Liver (IHD)	Favor reactive	Negative	Hepatocellular carcinoma	Negative	Resection
38	65	F	Liver (IHD)	Negative	Negative	Adenocarcinoma, M/D	Strong	NBx
39	73	F	Liver (IHD)	Negative	Negative	Adenocarcinoma, M/D	Moderate	NBx
40	73	M	Liver (IHD)	Negative	Negative	IHD stone	Negative	Resection

IMP3, insulin-like growth factor II mRNA binding protein 3; Bx, biopsy; EHD, extrahepatic duct; GB, gallbladder; M, male; F, female; CBD, common bile duct; W/D, well differentiated; EBx, endoscopic biopsy; AOF, ampulla of Vater; PPPD, pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy; P/D, poorly differentiated; M/D, moderately differentiated; PTBD, percutaneous transhepatic biliary drainage; IHD, intrahepatic duct; NBx, needle biopsy.

비율이 가장 큰 부분의 강도로 판정하였다.

통계학적 분석

조직 검체에서 쓸개관암종뿐만 아니라 고등급 형성이상 병태에서도 IMP3가 중앙성으로 발현되었다. 따라서 쓸개관암종과 고등급 형성이상 병태를 묶어 IMP3의 발현을 평가하였으며, 쓸개관암종과 고등급 형성이상이 IMP3의 발현과 연관성이 있는

지를 알아보기 위하여 Fisher's exact test를 시행하였다. 이때 프로그램은 Window용 PASW ver. 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였으며, p값이 0.05 미만일 때 통계학적 유의성이 있다고 인정하였다. 또한 쓸개암세포검사에서 IMP3의 발현이 진단에 유용한지를 보기 위하여 민감도와 특이도, 양성예측도와 음성예측도를 구하였다.

결 과

조직 검체에서 IMP3의 발현

조직병리검사에서 쓸개관암중(34예) 또는 쓸개관 고등급 형성이상(2예)으로 진단된 36예 모두는 IMP3에 양성이었으며, 병터 주변의 정상 쓸개관들은 IMP3 음성이었다(Table 2, Fig. 1). 또한 쓸개관암중 중 18예는 강양성, 15예는 중양성, 그리고 1예는 약양성이었으며, 쓸개관 고등급 형성이상 2예는 모두 중양성이었다.

쓸개관암중이 없거나 쓸개관 저등급 형성 이상이 있는 4예의 쓸개관은 모두 IMP3 음성이었는데(Table 2, Fig. 1), 이 중 쓸개관 이상은 없지만 간세포암중이 있는 2예는 간세포암중 일부에서 IMP3에 중양성을 보였다. 쓸개관암중 또는 쓸개관 고등급 형성 이상은 쓸개관 저등급 형성 이상 또는 쓸개관 이상이 없는 경우에 비해 IMP3의 발현 빈도가 유의하게 높았다($p < 0.001$) (Table 2). 한편 IMP3는 병터에 광범위하게 염색이 되었지만, 몇몇 증례에서는 염색의 강도가 다양하였으며, 또 일부에서는 염색되지 않는 부분도 관찰되었다.

Table 2. Summary of the IMP3 expression on the cytology and on the histology specimens

Histologic Dx	IMP3 expression		p-value	Cytologic Dx	IMP3 expression		p-value
	(-)	(+)			(-)	(+)	
B or LGD (n = 4)	4	0	< 0.001	N or favor R	2	1	0.042
				Suspicious malignancy or cholangiocarcinoma	1	0	
HGD or cholangiocarcinoma (n = 36)	0	36		N or favor R	3	1	
				Suspicious malignancy or cholangiocarcinoma	4	28	

IMP3, Insulin-like growth factor II mRNA binding protein 3; Dx, diagnosis; B, benign; LGD, low grade dysplasia; N, negative; R, reactive; HGD, high grade dysplasia.

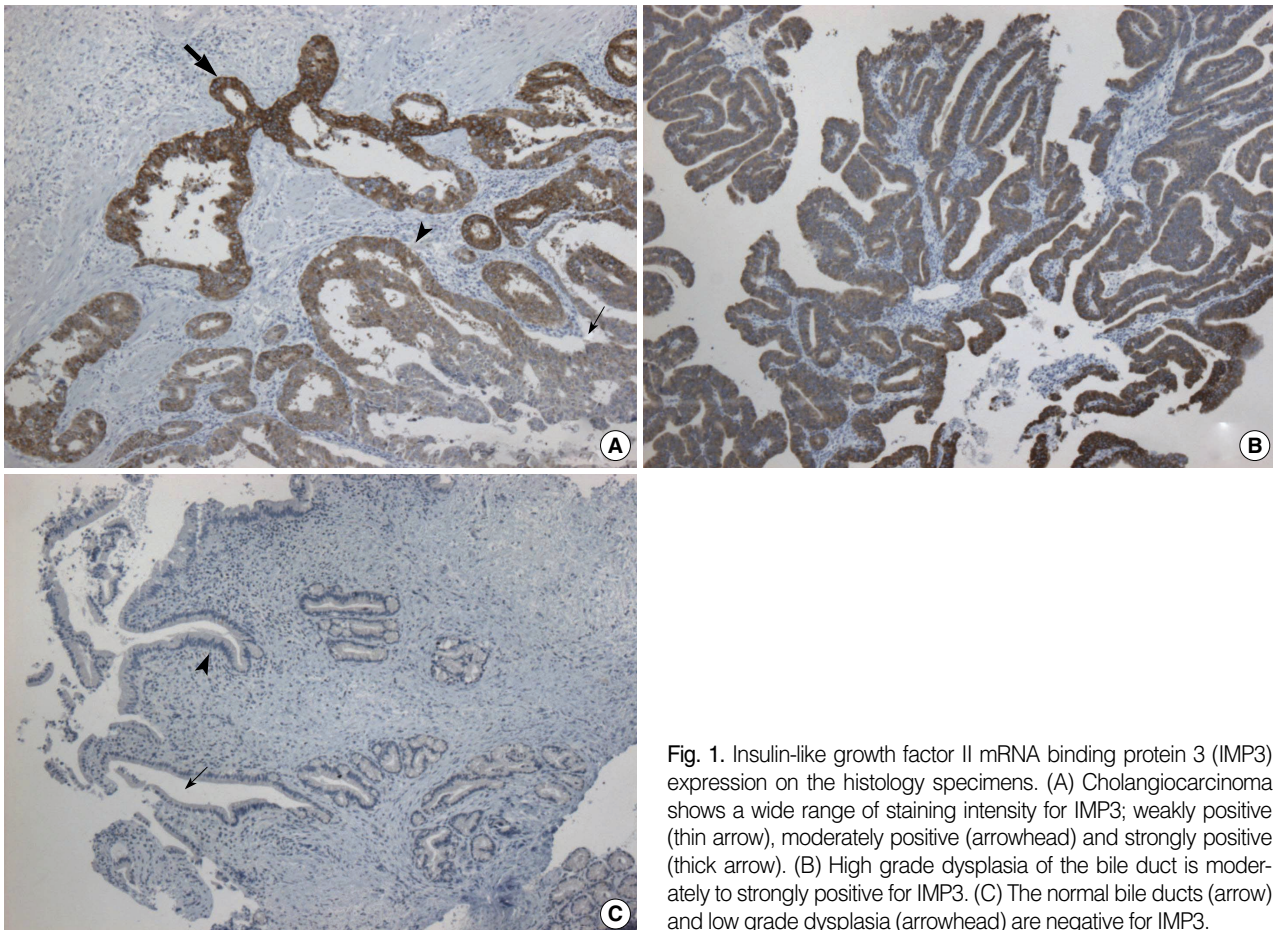


Fig. 1. Insulin-like growth factor II mRNA binding protein 3 (IMP3) expression on the histology specimens. (A) Cholangiocarcinoma shows a wide range of staining intensity for IMP3; weakly positive (thin arrow), moderately positive (arrowhead) and strongly positive (thick arrow). (B) High grade dysplasia of the bile duct is moderately to strongly positive for IMP3. (C) The normal bile ducts (arrow) and low grade dysplasia (arrowhead) are negative for IMP3.

세포 검체에서 IMP3의 발현

조직병리검사에서 쓸개관암종 또는 쓸개관 고등급 형성이상으로 진단받은 36예 중 29예가 세포병리검사에서 IMP3 양성이었으며(Table 2, Fig. 2), 조직병리검사에서 쓸개관암종이나 쓸개관 고등급 형성 이상이 없는 나머지 4예 중 간세포암종으로 진단된 1예가 세포병리검사에서 IMP3 약양성이었다. 결과적으로 조직병리검사에서 쓸개관암종 또는 쓸개관 고등급 형성이상으로 진단된 예들이 쓸개관 저등급 형성 이상이 있거나 쓸개관 이상이 없는 경우에 비해, 세포병리검사에서 IMP3의 발현 빈도가 유의하게 높았다($p=0.042$) (Table 2). 조직 검체와 마찬가지로, IMP3는 쓸개관암종세포에 광범위하게 염색되기도 하였지만, 어느 경우는 세포 덩이의 일부 세포에만 염색되기도 하였다.

또한 세포 진단의 민감도는 88.9%, 특이도는 75.0%, 그리고 양성 및 음성예측도는 각각 97%, 42.9%였다(Table 3). 세포 검사에서 IMP3 발현을 진단의 기준으로 사용한 경우, 진단의 민감도는 80.6%, 특이도는 75.0%, 양성 및 음성예측도는 96.7%, 30.0%였다(Table 3). 그리고 세포병리검사에서 IMP3 약양성

인 간세포암종을 제외한 경우의 특이도는 100%였다.

조직 검체와 세포 검체에서 병리 진단과 IMP3 발현의 차이

조직과 세포병리검사의 진단이 달랐던 경우 5예 중 3예(36, 38, 39번 증례)는 조직병리검사의 진단에서 모두 쓸개관암종으로 진단받았으며, 모두 IMP3에 양성이었다(Table 1). 그러나 세포병리검사의 진단은 반응성 변화가 1예, 그리고 음성이 2예였

Table 3. Results of the sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value

	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
Cytology only	88.9	75.0	97.0	42.9
IMP3 positive only	80.6	75.0	96.7	30.0
Revised cytology only	80.6	75.0	96.7	30.0
Revised cytology + IMP3 positive	83.3	75.0	96.8	33.3

Values are presented as percentage.

PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; IMP3, insulin-like growth factor II mRNA binding protein 3.

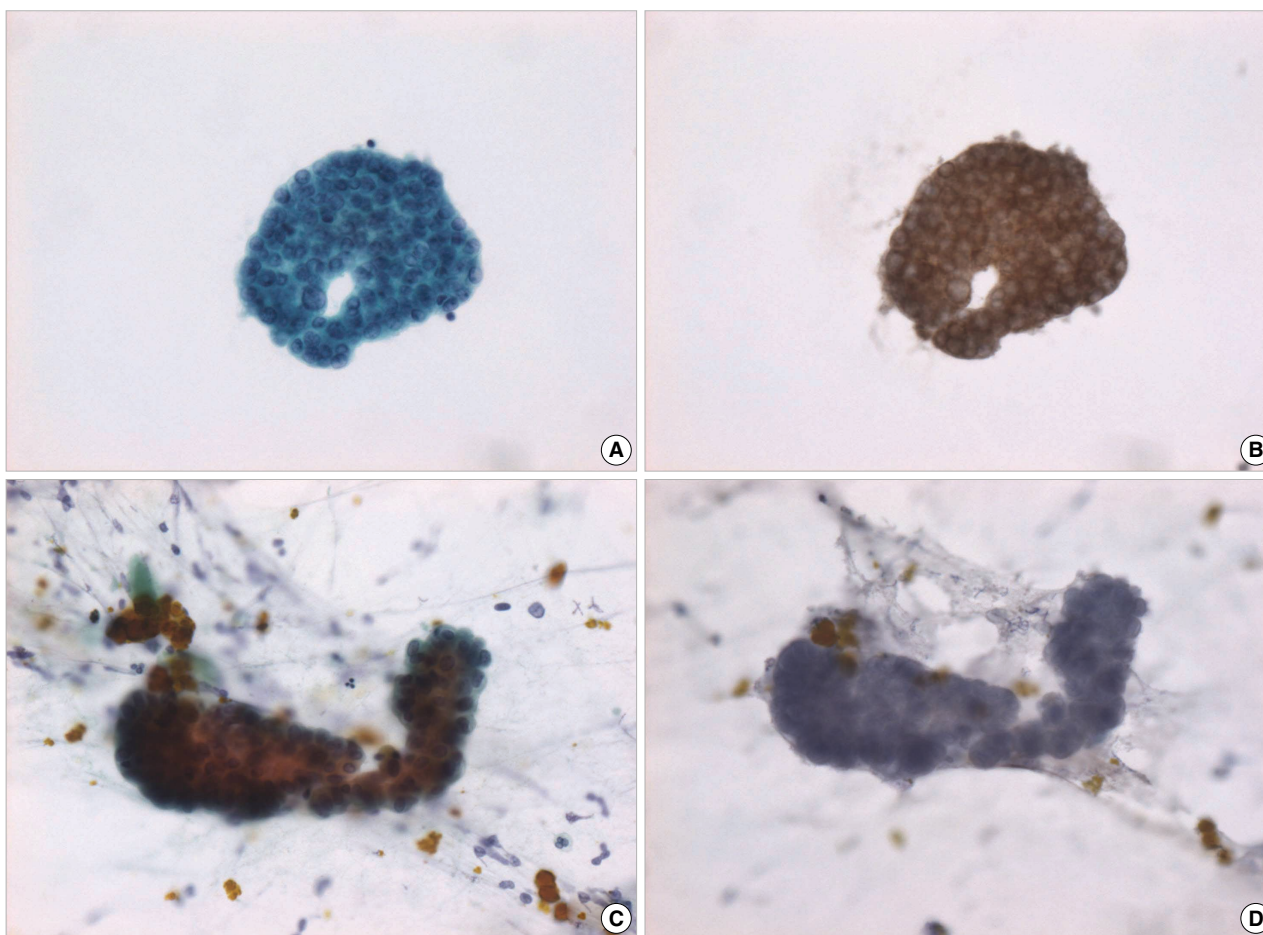


Fig. 2. Insulin-like growth factor II mRNA binding protein 3 (IMP3) expression on the cytology specimens. Cholangiocarcinoma cells in the bile juice (A) are diffusely and strongly positive for IMP3 (B). The benign bile duct epithelial cells in the bile juice (C) are negative for IMP3 (D).

고 3예 모두 IMP3에 음성이었다. 다른 1예(26번 증례)는 조직병리검사의 진단이 쓸개관암종이었고, 세포병리검사의 진단은 반응성 변화였는데, IMP3 발현은 조직과 세포 검체 모두에서 중양성이었다(Table 1). 그리고 나머지 1예(34번 증례)는 조직병리검사의 진단이 쓸개관 저등급 형성이상이었고, 세포병리검사의 진단은 악성 의심이었으며 IMP3 발현은 조직과 세포 검체 모두에서 음성이었다(Table 1).

조직과 세포병리검사의 진단은 같은데, IMP3의 발현이 달랐던 경우 5예 중 4예(9, 24, 25, 33번 증례)의 조직병리검사 진단은 쓸개관암종이었고, 세포병리진단은 각각 쓸개관암종(9번 증례)과 악성 의심이었다(24, 25, 33번 증례)(Table 1). 이들 증례의 조직 검체는 IMP3 중양성 또는 강양성이었지만, 세포 검체는 모두 IMP3 음성이었다. 나머지 1예(35번 증례)는 쓸개관 이상은 없었지만 간세포암종이 있던 증례로, 세포병리검사의 진단은 반응성 변화였다(Table 1). 또 조직 검체에서 정상 쓸개관세포는 IMP3 음성이었지만, 간세포암종에서는 일부 세포가 IMP3 중양성이었으며, 세포 검체는 IMP3 약양성이었다.

세포학적 재검토

조직과 세포병리검사의 진단이 다른 5예(26, 34, 36, 38, 39번 증례)를 재검토하였다. 36, 38, 39번 증례 각각의 소견은 처음 진단인 반응성 변화 또는 음성에 해당하였으며, 26번 증례는 세포병리검사에서 반응성 변화로 진단받았지만 IMP3 양성이었으며, 조직병리 진단은 쓸개관암종이었다(Fig. 3). 이들은 세포핵이 진하게 염색되고 핵의 크기도 다양했으나, 검체가 다소 변성되어 여전히 변성된 반응성 세포와의 감별이 어려웠다.

34번 증례는 세포병리검사에서 악성 의심으로 진단을 받았으나 IMP3 음성이었으며, 조직병리 진단은 저등급 형성이상이었다. 이 증례에서 세포들은 방향성 없이 뭉쳐 있었고 핵의 크기와 모양은 다양하였는데 다소 진하게 염색되었다. 또 핵막은 매끈한 편이고 염색질도 고르게 분포되어 있었지만, 세포중첩이 심하고 임상에서 악성을 의심하는 증례여서 세포병리검사만으로는 쓸개관 고등급 형성이상과 구분하기 어려웠다.

한편 조직과 세포병리검사의 진단은 같은데, 조직과 세포 검체

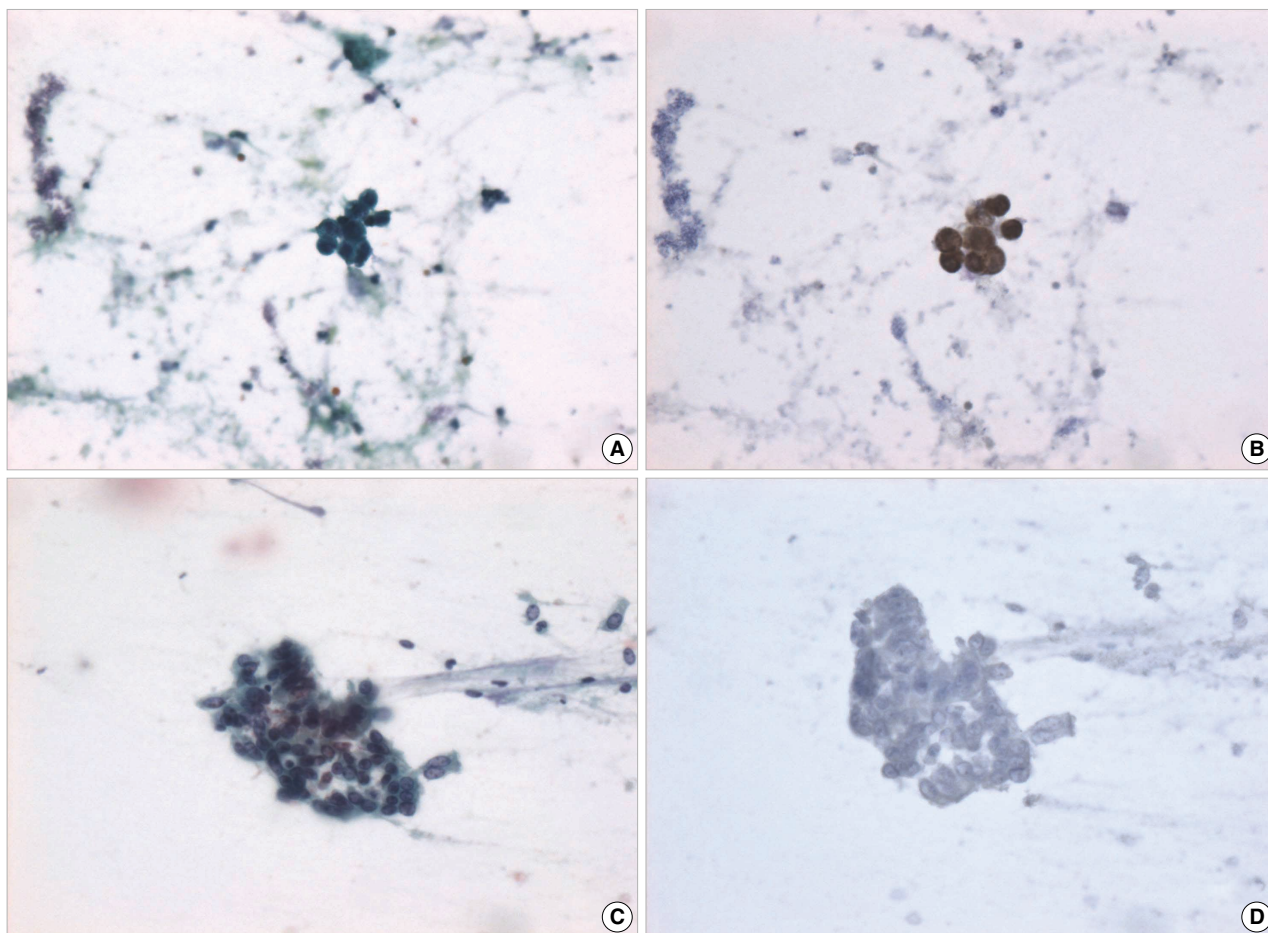


Fig. 3. Insulin-like growth factor II mRNA binding protein 3 (IMP3) expression on the cytology specimens. Case No. 26 is diagnosed as favorably reactive (A), but IMP3 is moderately expressed (B). Case No. 33 (C) is diagnosed as suspicious for malignancy at first, but the IMP3 expression is negative (D) and the diagnosis is revised as reactive change.

에서 IMP3 발현이 달랐던 5예(9, 24, 25, 33, 35번 증례)를 재검토하였다. 9번 증례는 세포병리검사에서 쓸개관암종으로 진단 받았으나 IMP3는 음성이었다. 이는 세포 블록을 사용한 증례였는데 관찰된 세포들은 세포질에 비해 핵의 크기가 크고 핵이 진하게 염색되었으며, 염색질이 뭉쳐 있고 핵막도 불규칙하였다. 따라서 비록 관찰된 세포들이 IMP3 음성이었지만, 세포병리검사 소견만으로도 쓸개관암종으로 진단할 수 있는 증례였다. 24번, 25번, 33번 증례는 세포병리검사에서 악성 의심으로 진단되었으나, 세포 검체는 IMP3 음성이었다(Fig. 3).

이들 증례를 재검토한 결과, 관찰된 세포의 핵이 세포질에 비해 커지기는 하였으나, 핵막이 매끈하고 핵의 과염색도 관찰되지 않았으며 염색질도 고르게 분포되어 있어 반응성 변화에 더 맞는 소견이었다.

35번 증례는 쓸개관 병터는 없는 증례로 세포병리검사에서 반응성 변화로 진단되었으나, 세포 검체에서 IMP3는 약양성이었다. 관찰된 세포는 3차원 구조로 뭉쳐 있었으며, 핵은 약간 커져 있었지만 세포질이 비교적 풍부하고, 핵막은 비교적 매끈하며 1-2개의 뚜렷한 핵인이 있었다. 따라서 쓸개관 기원의 악성 세포로 생각하기는 어려웠다.

한편 수정한 세포병리진단 결과의 민감도, 특이도, 양성 및 음성예측도는 각각 80.6%, 75%, 96.7%, 30.0%였으며, 수정한 세포병리 진단과 IMP3 양성을 통합한 경우에는 83.3%, 75%, 96.8%, 33.3%였다(Table 3).

고 찰

조직 검체에서 쓸개관암종 34예 모두 IMP3에 양성이었다. 그중 18예가 강양성, 15예가 중양성, 그리고 1예가 약양성이었는데, 약양성인 1예는 침생검 표본을 사용한 증례였다. 또 쓸개관 고등급 형상이상인 2예는 중양성이었다. 그리고 주변 정상 쓸개관은 IMP3 발현이 없었다.

Riener 등⁵은 쓸개관암종, 쓸개관 고등급 및 저등급 형상이상, 정상 쓸개관, 반응성 상피변화가 있는 쓸개관을 대상으로 한 연구에서 모든 쓸개관 고등급 형상이상은 IMP3 강양성이었으나, 쓸개관암종은 115예 중 67예(58.3%)만 강양성을 보이고 나머지는 약양성이었다고 보고하였다. Riener 등⁵의 연구 결과는 본 연구에 비해 IMP3의 발현이 약한 경우가 더 많았는데, 이는 쓸개관암종 연구에 tissue microarray 표본을 사용할 때 일부 검체의 경우 염색강도가 낮은 부분이 선택되었을 수도 있었기 때문이라 생각한다. 따라서 비록 일부 쓸개관암종에서는 IMP3의 발현이 약했지만, 모든 쓸개관암종에서 IMP3가 발현된다고 볼 수 있으며, 쓸개즙 세포병리검사에서 쓸개관암종 진단에 유용하게 사용될 수 있을 것이라 생각한다.

본 연구에서 조직과 세포 검체에서 쓸개관암종뿐만 아니라 쓸개관 고등급 형상이상에서도 IMP3가 강양성 또는 중양성으로

발현되었는데, 이러한 결과는 쓸개관 조직을 대상으로 IMP3의 발현을 연구한 Riener 등⁵의 결과와도 일치한다. Riener 등⁵의 연구에서 쓸개관 고등급 형상이상의 병터는 모두 쓸개관암종이 있는 경우에 동반된 병터였는데, 본 연구의 경우 쓸개관 고등급 형상이상으로 진단받은 2예는 모두 절제술은 시행하지 않고 피부간경유쓸개즙배액술을 통해 생검만 시행한 증례들이어서 주변에 쓸개관암종이 있을 가능성을 배제할 수 없다. 따라서, 쓸개즙 검체에서 고등급 형상이상이 관찰될 경우 쓸개관 고등급 형상이상만 있기보다는 쓸개관 암종이 동반되어 있을 가능성이 높다고 생각한다.

한편 세포병리검사에서 악성 의심으로 진단받은 증례는 모두 24예였는데, 그중 20예가 IMP3 양성이고 이들 증례 모두는 쓸개관암종 또는 쓸개관 고등급 형상이상이 있는 증례였다. 또한 이들 중 2예는 쓸개관 고등급 형상이상으로 진단받은 증례였다. 하지만 영상학적 검사에서 암종이 의심되었기 때문에 영상학적 소견과 IMP3 양성 소견을 참고한다면 이들 증례 역시 쓸개관암종으로 진단할 수 있다고 생각한다. 그리고 세포병리검사에서 악성 의심으로 진단되었지만 세포 검체에서 IMP3 음성이었던 4예(24, 25, 33, 34번 증례)는 세포 검체를 재검토한 결과, 위양성(24, 25, 33번 증례)이거나 세포 소견은 판정하기 곤란하였지만 조직 검체에 쓸개관 저등급 형상이상만 있는 증례였다(34번 증례). 따라서 이러한 결과를 바탕으로 세포병리검사 소견에서 악성 종양이 의심되면서 IMP3 양성이면 쓸개관암종으로 진단할 수 있다고 생각한다.

본 연구에서 쓸개관암종환자의 세포 검체 IMP3의 발현 빈도가 조직 검체보다 낮은 원인은 다음과 같이 생각해 볼 수 있다. 첫째, 몇몇 조직 검체에서 IMP3 발현은 부위에 따라 다양한 강도를 보였다는 것이다. 또 일부에서는 판단하기 애매모호하게 염색이 되는 부분도 있었다(Fig. 1). 그런 부분에서 떨어져 나온 세포들이 도말된 경우 세포병리검사에서 악성이 의심되더라도 IMP3의 발현은 음성으로 나올 가능성이 있을 것이다(9번 증례).

두 번째, 세포 검체에 도말된 세포 수가 적었다는 것이다. 본 연구에 사용된 세포 검체는 배액된 쓸개즙이었으며, 대부분 도말된 세포 밀도가 낮았다. 술질을 통해 얻은 세포 검체는 배액된 쓸개즙을 통해 세포를 얻는 경우보다 훨씬 많은 세포를 얻을 수 있을 것이며, 특히 병터에서 떨어진 세포를 더 많이 얻을 수 있을 것이다. Ligato 등¹⁸의 연구에서 IMP3 발현을 통한 세포병리검사의 민감도는 92%로 본 연구보다 높았는데, 이것은 그들이 쓸개관 술질을 통해 얻은 검체를 연구에 사용하였기 때문일 수도 있다고 생각한다.

세 번째, 쓸개관암종세포는 도말되지 않고 반응성 세포 또는 정상 쓸개관세포만 도말되었을 경우이다. 실제로 세포 검체와 조직 검체의 진단은 같지만, IMP3 발현 양상이 다른 세포 검체를 재검토하였을 때, 정상 또는 반응성 세포를 악성 의심으로 과잉진단을 한 증례들이 있었다(24, 25, 33번 증례). 이들의 경

우 악성 종양이 의심되는 임상 및 영상검사 소견에 대한 선입관, 반복되는 세포병리검사에 대한 부담감 등이 비종양성 세포를 악성 의심으로 진단하게 하였을 것으로 생각한다.

재검토 이전에 세포병리진단을 적용했을 때 세포병리진단만을 진단 기준으로 한 경우는 민감도, 특이도, 양성 및 음성 예측 지수가 다른 진단기준보다 높았다. 하지만 세포병리검사 슬라이드를 재검토하여 수정된 세포병리진단을 적용하였을 때는 세포병리진단만을 진단기준으로 사용한 경우보다 세포병리진단과 IMP3 양성 소견을 통합해 진단 기준으로 삼은 경우가 더 높았다. 이는 모든 쓸개관암종의 조직 검체에서 IMP3가 발현되었으므로 세포 검체에서 판독이 애매한 경우 IMP3 소견을 참고해 진단의 정확도가 높아졌기 때문일 것이다.

한편 본 연구에 사용된 검체 중에는 IMP3 염색을 시행하였더라면 비종양성 세포를 악성 의심으로 진단하지 않았을 증례와 쓸개관암종 세포를 저평가하여 진단이 지연되는 경우를 막을 수 있었을 것으로 추정되는 증례가 있었다. 또한, IMP3 염색을 시행하였더라면 악성 종양이 없는 환자가 악성 의심으로 과잉 진단되어 간을 절제하는 일도 막을 수 있었던 증례도 있었다.

간세포암종이 있던 증례 중 1예(35번 증례)는 세포 검체에서 IMP3가 약양성이었다. 이 증례는 조직 검체에서 간세포암종 세포 일부가 IMP3에 중양성이었고, 주변의 정상 쓸개관들은 IMP3 음성이었으며, 간속쓸개관 침범이 동반되어 있었다. Jeng 등¹⁴은 377예의 원발성 간세포암종 중 255예(67.6%)에서 IMP3가 발현되었다고 보고하였다. 따라서 세포병리 검체에서 관찰된 IMP3 양성인 세포는 간세포암종에서 떨어져 나온 세포일 수도 있다고 생각한다.

본 연구에서 아쉬운 점은 조직병리검사에서 쓸개관암종이 아닌 다른 악성 종양 또는 쓸개관 고등급 형성이상이 아닌 병터로 확진 받은 증례에서 세포병리검사를 시행한 증례의 수가 적었다는 것이다. 즉 대조군으로 사용된 증례는 간속돌과 간세포암종이었는데, 간속돌이 있는 환자에게 세포병리검사를 시행한 경우가 거의 없었다. 따라서 음성 대조군이 더 많았더라면 쓸개관암종과 쓸개관 고등급 형성이상에 대한 세포 검체에서 IMP3 발현의 특이도와 음성예측도가 더 높을 수도 있었을 것이라 생각한다.

결론적으로 조직 검체에서 쓸개관암종 또는 쓸개관 고등급 형성이상은 모든 증례(36/36)에서 IMP3 양성이었지만, 정상 쓸개관 세포, 쓸개관 저등급 형성이상은 IMP3 음성이었다는 점, 그리고 세포병리 진단에서 IMP3 양성 소견을 참조할 때 더 정확한 진단이 가능했다는 점을 고려할 때, IMP3는 쓸개관암종의 세포병리검사에 유용한 진단적 표지자가 되리라고 생각한다.

참고문헌

1. Nielsen FC, Nielsen J, Christiansen J. A family of IGF-II mRNA binding proteins (IMP) involved in RNA trafficking. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 2001; 234: 93-9.
2. Mueller-Pillasch F, Pohl B, Wilda M, *et al.* Expression of the highly conserved RNA binding protein KOC in embryogenesis. *Mech Dev* 1999; 88: 95-9.
3. Vikesaa J, Hansen TV, Jønson L, *et al.* RNA-binding IMPs promote cell adhesion and invadopodia formation. *EMBO J* 2006; 25: 1456-68.
4. Nielsen J, Christiansen J, Lykke-Andersen J, Johnsen AH, Wewer UM, Nielsen FC. A family of insulin-like growth factor II mRNA-binding proteins represses translation in late development. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 1262-70.
5. Riener MO, Fritzsche FR, Clavien PA, *et al.* IMP3 expression in lesions of the biliary tract: a marker for high-grade dysplasia and an independent prognostic factor in bile duct carcinomas. *Hum Pathol* 2009; 40: 1377-83.
6. Schaeffer DE, Owen DR, Lim HJ, *et al.* Insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 3 (IGF2BP3) overexpression in pancreatic ductal adenocarcinoma correlates with poor survival. *BMC Cancer* 2010; 10: 59.
7. Findeis-Hosey JJ, Yang Q, Spaulding BO, Wang HL, Xu H. IMP3 expression is correlated with histologic grade of lung adenocarcinoma. *Hum Pathol* 2010; 41: 477-84.
8. Walter O, Prasad M, Lu S, Quinlan RM, Edmiston KL, Khan A. IMP3 is a novel biomarker for triple negative invasive mammary carcinoma associated with a more aggressive phenotype. *Hum Pathol* 2009; 40: 1528-33.
9. Li D, Yan D, Tang H, *et al.* IMP3 is a novel prognostic marker that correlates with colon cancer progression and pathogenesis. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 3499-506.
10. Noske A, Faggad A, Wirtz R, *et al.* IMP3 expression in human ovarian cancer is associated with improved survival. *Int J Gynecol Pathol* 2009; 28: 203-10.
11. Lu D, Vohra P, Chu PG, Woda B, Rock KL, Jiang Z. An oncofetal protein IMP3: a new molecular marker for the detection of esophageal adenocarcinoma and high-grade dysplasia. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 521-5.
12. Jiang Z, Chu PG, Woda BA, *et al.* Combination of quantitative IMP3 and tumor stage: a new system to predict metastasis for patients with localized renal cell carcinomas. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 5579-84.
13. Li L, Xu H, Spaulding BO, *et al.* Expression of RNA-binding protein IMP3 (KOC) in benign urothelium and urothelial tumors. *Hum Pathol* 2008; 39: 1205-11.
14. Jeng YM, Chang CC, Hu FC, *et al.* RNA-binding protein insulin-like growth factor II mRNA-binding protein 3 expression promotes tumor invasion and predicts early recurrence and poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 48: 1118-27.

15. Li KH, Huang YP, Zhang J, Li GJ, Li SH. Expression of IMP3 in osteosarcoma and its clinical significance. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi* 2009; 25: 426-7.
16. Ikeda K, Tate G, Suzuki T, Kitamura T, Mitsuya T. IMP3/L523S, a novel immunocytochemical marker that distinguishes benign and malignant cells: the expression profiles of IMP3/L523S in effusion cytology. *Hum Pathol* 2010; 41: 745-50.
17. Mentrikoski MJ, Ma L, Pryor JG, *et al.* Diagnostic utility of IMP3 in segregating metastatic melanoma from benign nevi in lymph nodes. *Mod Pathol* 2009; 22: 1582-7.
18. Ligato S, Zhao H, Mandich D, Cartun RW. KOC (K homology domain containing protein overexpressed in cancer) and S100A4-protein immunoreactivity improves the diagnostic sensitivity of biliary brushing cytology for diagnosing pancreaticobiliary malignancies. *Diagn Cytopathol* 2008; 36: 561-7.
19. Hamilton SR, Aaltonen LA. World Health Organization classification of tumors: pathology and genetics of tumors of the digestive systems. Lyon: IARC Press, 2000; 158-80, 204-14.