

자궁경부 상피내종양의 PCNA 발현

이화여자대학교 의과대학 산부인과학교실, 병리학교실*

문해성 · 김성숙* · 김승철

= Abstract =

Proliferating Cell Nuclear Antigen Expression in Cervical Intraepithelial Neoplasia

Hye Sung Moon M. D., Sung Sook Kim M. D.,* Seung Cheol Kim M. D.

*Department of Obstetrics and Gynecology, Department of Pathology**

College of Medicine, Ewha Womans University, Seoul, Korea

In comparison with normal cervix, mitosis occur more frequently in cervical intraepithelial neoplasia(CIN) and are seen at high levels, suggesting that CIN may be associated with a progressive dysfunction in proliferative activity of cervical cells. This study aims that expression of proliferative cell nuclear antigen(PCNA) was examined to determine proliferative activity at the cell of CIN.

Sixty four colposcopic biopsies from patients with cytologically and/or colposcopically dtagnosed condyloma and CIN. The cases were classified as follows ; 19 as normal cervix and condyloma, 15 as CIN I, 16 as CIN II and 14 as CIN III. Immunohistochemical detection of PCNA was performed on paraffin sections by the streptavidin-biotin peroxidase method using the monoclonal antibody PC10.

There was a statistically significant correlation between the CIN grade and the PCNA grade($p<0.05$). In addition, the PCNA grade showed significant correlation with mitotic grade($p<0.05$) and the CIN grade was also observed($p<0.05$).

This study suggests that the cell proliferation index as detected immunohistochemically using PCNA may be a useful adjunct to histopathological diagnosis of various grades of CIN.

Key words : CIN, PCNA, Mitosis

I. 서 론

정상적인 세포는 세포주기에 의해 조절되나 악성

세포는 세포증식의 혼란으로부터 발생되며 정상적인 세포주기의 조절로부터 이탈한 정도가 악성도를 반영한다. 따라서 정상적인 세포주기에서의 이탈은

세포주기의 조절과 관련된 비정상적인 항원의 발현을 측정함으로써 알 수 있고 이러한 항원 중의 하나가 Proliferating cell nuclear antigen(이하 PCNA라 칭함)이다.

PCNA는 증식성 세포에서 표현되는 핵단백질 중의 하나로 1978년 Miyachi 등에 의해 최초로 기술되었고¹⁾ 1987년 Plehlich에 의해 DNA 증식에 중요한 역할을 한다고 알려졌다.²⁾ PCNA는 분자량 36kDa의 nuclear polypeptide로서 세포핵 내에 있는 DNA polymerase delta에 대한 보조 단백질이며^{3,4)} DNA 복제, DNA 재생 등 세포주기에 필수적이고 세포주기 중 G1 후기부터 S기 전반에 걸쳐 합성된다.⁵⁾ 그러므로 PCNA는 세포 내에 축적되고 정상세포에 PCNA 염색을 시행함으로써 세포의 증식정도를 알 수 있다.⁶⁾ PCNA 단세포항체의⁷⁾ 면역조직학적 염색이 가능하여 종양세포 증식과 종양 성장 속도를 측정할 수 있다.⁸⁾

PCNA의 표현 정도가 암의 조직형과 분화도, 유사분열(mitosis) 지수와 밀접한 관계가 있다고 보고되었으며⁹⁾ 위암에서,¹⁰⁾ 난소암에서,^{11,12)} 자궁내막암에서도¹³⁾ PCNA가 암의 예후를 잘 반영한다고 보고되었다.

자궁경부암은 전암단계인 자궁경부 상피내종양에서부터 발생하며 이러한 자궁경부 상피내종양의 조직병리학적 진단에 병리의사의 주관성이 영향을 미칠 수 있기 때문에¹⁴⁾ 상피내종양의 진단에 객관적인 지표가 필요하다.

정상 자궁경부 상피세포는 병리학적으로 유사분열이 거의 일어나지 않는 데 반해 자궁경부 상피내종양은 빈번한 유사분열에 의해 세포가 증식되며 유사분열이 거의 비정상적으로 발생하기 때문에 이러한 비정상적인 유사분열의 존재가 상피내종양의 진단에 이용된다.¹⁵⁻¹⁷⁾

인유두종 바이러스(Human papillomavirus) 감염에 의한 세포학적 변화는 자궁경부의 비정형성 정도를 증가시켜 인유두종 바이러스 감염이 동반된 경우는 자궁경부 상피내종양의 진단이 정확하지 않을 수도 있다.¹⁸⁾

상피내종양의 조직학적 진단은 환자의 치료와 치료 후 추적검사에 중요한 역할을 담당하기 때문에 조직학적 검사의 정확도를 증가시키는 것은 중요하다.

따라서 본 연구에서는 자궁경부 상피내종양에서의 세포증식 정도를 면역조직학적 염색 방법에 의한 PCNA 발현으로 측정하고 유사분열 정도와 비

교하며 PCNA 발현이 자궁경부 상피내종양의 진단에 역할을 하는지 알아보고자 하였다.

II. 연구 대상 및 방법

환자는 1994년 9월부터 1995년 2월까지 이화여자대학교 동대문병원을 내원한 환자 중 정상 자궁경부 환자를 포함하여 암세포진 검사에서 비정상이며 질확대경검사하 조직생검을 시행하여 자궁경부 상피내종양 진단을 받은 환자 64예를 대상으로 하였으며 자궁경부 상피내종양의 진단은 비정상적인 기저세포가 포함되는 상피두께를 기준으로 하였다.¹⁹⁾

정상 자궁경부와 콘딜로마(condyloma) 19예, 자궁경부 상피내종양 I(CIN I) 15예, 자궁경부 상피내종양 II(CIN II) 16예, 자궁경부 상피내종양 III(CIN III) 14예를 대상으로 파라핀 포매조직을 이용하여 5 μ m의 조직절편으로 슬라이드를 만든 후 Hematoxylin-eosin 염색을 실시하여 병변이 있는 절편으로 하였다.

조직면역반응은 DAKO사의 단세포 항체(monoclonal antibody)인 PC10를 이용한 streptavidin-biotin peroxidase complex method를 이용하였다. 선택된 파라핀 조직은 5 μ m의 절편으로 만든 후 슬라이드에 부착시키고 탈파라핀화 및 재수화시킨다. endogenous peroxide의 활성을 막기 위해 3% hydrogen peroxide in phosphate buffered saline (PBS) 용액에 15분 동안 담갔다가 PBS 용액에 3번, 5분 동안 씻은 후 1:25로 PBS 용액에 희석된 anti-PCNA 항체를 4℃에서 18시간 동안 반응시켰다. PBS 용액에 씻은 후 22℃에서 30분 동안 1:250로 PBS 용액에 희석된 biotinylated antimouse immunoglobulin G에 반응시켰고 그 후 streptavidin-horseradish peroxidase complex에 반응시켰다. Diaminobenzidine을 hematoxylin counterstain의 chromogen으로 사용하였다.

모든 절편은 염색 후 병리의사가 현미경 $\times 400$ 배율로 측정하였고 강도에 상관없이 특징적인 핵이 염색될 때 PCNA 양성으로 판독하였고 PCNA 지수(PCNA index)는 자궁경부 상피세포 300개 중에 PCNA 양성세포의 백분율로 하였다. PCNA grade는 0, 1, 2, 3으로 나누어 grade 0은 PCNA가 염색되지 않거나 기저층(basal layer)에 국한된 경우로 하였으며 grade 1, 2, 3은 PCNA 양성 핵이 상피층

의 하 1/3, 중간 2/3까지, 상피층 전층에 보일 때로 하였다. 유사분열 지수도 자궁경부 상피세포 300개 중 유사분열을 보이는 세포의 백분율로 하였으며 mitotic grade도 PCNA grade와 동일하게 판독하였다.

통계적 분석은 Kruskal-Wallis test와 Mantel-Haenszel Chi-Square (ridit scores)를 이용하였다.

III. 연구 결과

1. 조직 내의 PCNA 발현

PCNA는 정상 자궁경부 상피세포의 세포질에서 발현되기는 하나 주로 핵에 국한되는 양상을 나타내었으며 평상피세포에서는 거의 발현되지 않았고 원주 상피세포에서는 약 5-10%에서 발현되었다(Fig. 1).

콘딜로마에서는 koilocytosis가 관찰되며 약하고 불규칙하게 다발적으로 PCNA가 발현되는데, 주로 기저세포와 상피층 전층의 koilocyte 세포에 다발적으로 발현되었으며 양상을 나타내었다(Fig. 2).

자궁경부 상피내종양에서는 미만성으로 규칙적이고 진하게 발현되었으며 기저세포와 각 비정형 세포가 차지하는 부분에 나타났다(Fig. 3-5).

2. PCNA 지수

PCNA 지수는 자궁경부 상피내종양 I에서 전 상피층의 $23.8 \pm 4.8\%$, 이형성층의 $36.9 \pm 7.8\%$ 였고 자궁경부 상피내종양 II에서는 $35.2 \pm 6.4\%$ 와 $45.7 \pm 3.4\%$ 였으며 자궁경부 상피내종양 III에서는 $48.9 \pm 5.3\%$ 와 $40.8 \pm 6.7\%$ 였다(Table 1).

Fig. 1. Normal cervical epithelium showing PCNA positive nuclei confined to the basal layer. PCNA grade 0 ($\times 20$).

Fig. 2. Cervical epithelium of condyloma showing PCNA positive nuclei in basal cells and koilocytes. PCNA grade 0 ($\times 40$).

Fig. 3. Cervical epithelium of CIN I showing PCNA positive nuclei extending into the lower zone of the epithelium. PCNA grade 1($\times 40$).

Fig. 4. Cervical epithelium of CIN II showing PCNA positive nuclei extending into the middle zone of the epithelium. PCNA grade 2 ($\times 40$).

Fig. 5. Cervical epithelium of CIN III showing PCNA positive nuclei extending into the superficial zone of the epithelium. PCNA grade 3($\times 40$).

PCNA 지수는 자궁경부 상피내종양의 단계가 진행될수록 증가하였으나($p < 0.05$) 이형성층에 따른 PCNA 지수는 통계적으로 유의하지 않았다.

Table 1. Proliferating Cell Nuclear Antigen Labeling Index

Histologic Diagnosis	Mean(%) \pm S.D.	
	Entire Layer	Dysplastic layer
Normal/Condyloma(n=19)	5.1 \pm 0.4	-
CIN I (n=15)	23.8 \pm 4.8	36.9 \pm 7.8
CIN II (n=16)	35.2 \pm 6.4	45.7 \pm 3.4
CIN III (n=14)	48.9 \pm 5.3	40.8 \pm 6.7

* $p < 0.05$ by Kruskal-Wallis test

S. D. ; Standard Deviation

3. PCNA grade와 자궁경부 상피내종양의 분류

PCNA grade 0은 17예, grade 1은 12예, grade 2는 11예, grade 3은 24예였으며 PCNA grade와 자궁경부 상피내종양의 분류 단계가 일치하는 경우는 33예(51.6%)였고 PCNA grade가 높은 경우는 22예(34.4%), 낮은 경우는 9예(14.0%)였다(Table 2).

자궁경부 상피내종양의 단계가 진행될수록 PCNA grade는 증가하였다($p < 0.05$).

Table 2. Comparison of PCNA Grade to Histologic Diagnosis

PCNA Grade	NL/Con	CIN I	CIN II	CIN III	Total
0	14	3	0	0	17
1	3	8	0	1	12
2	0	3	3	5	11
3	2	1	13	8	24
Total	19	15	16	14	64

* NL/Con ; normal cervical epithelium & condyloma, CIN ; cervical intraepithelial neoplasia

* $p < 0.05$ by Mantel-Haenszel Chi-Square(ridit scores)

4. 유사분열 지수

유사분열 지수는 자궁경부 상피내종양 I에서 전 상피층의 $0.01 \pm 0.04\%$ 였고 이형성층의 $0.08 \pm 0.06\%$ 였으며 자궁경부 상피내종양 II에서는 $0.54 \pm 0.09\%$, $0.69 \pm 0.12\%$ 였고 자궁경부 상피내종양 III에서는 $1.29 \pm 0.34\%$, $1.05 \pm 0.44\%$ 였다(Table 3).

유사분열 지수는 자궁경부 상피내종양의 단계가 따라 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$).

Table 3. Mitotic Index

Histologic Diagnosis	Mean(%) \pm S.D.	
	Entire Layer	Dysplastic layer
Normal/Condyloma	0	-
CIN I	0.01 \pm 0.04	0.08 \pm 0.06
CIN II	0.54 \pm 0.09	0.69 \pm 0.12
CIN III	1.29 \pm 0.34	1.05 \pm 0.44

* $p < 0.05$ by Kruskal-Wallis test

S. D. ; Standard Deviation

5. Mitotic grade와 자궁경부 상피내종양의 분류

mitotic grade 0은 19예, grade 1은 19예, grade 2는 12예, grade 3은 24예였으며 mitotic grade와 자궁경부 상피내종양의 분류 단계가 일치하는 경우는 49예(76.6%)였고 mitotic grade가 높은 경우는 9예(14.0%), 낮은 경우는 6예(9.4%)였다(Table 4).

자궁경부 상피내종양의 단계가 진행될수록 mitotic grade는 증가하였다($p < 0.05$).

Table 4. Comparison of Mitotic Grade to Histologic Diagnosis

Mitosis Grade	NL/Con	CIN I	CIN II	CIN III	Total
0	18	1	0	0	19
1	0	12	4	3	19
2	1	1	9	1	12
3	0	1	3	10	14
Total	19	15	16	14	64

* NL/Con ; normal cervical epithelium & condyloma, CIN ; cervical intraepithelial neoplasia

* $p < 0.05$ by Mantel-Haenszel Chi-Square(ridit scores)

6. PCNA grade와 mitotic grade의 관계

PCNA grade와 mitotic grade와 일치하는 경우는 34예(53.2%)였고 PCNA grade가 mitotic grade보다 높은 경우는 23예(35.9%), 낮은 경우는 7예(10.9%)였다(Table 5).

PCNA grade가 증가할수록 mitotic grade도 증가하였다($p < 0.05$).

Table 5. Comparison of PCNA Grade and Mitotic Grade

PCNA Grade	Mitotic Grade				Total
	0	1	2	3	
0	14	3	0	0	17
1	3	8	0	1	12
2	2	4	2	3	11
3	0	4	10	10	24
Total	19	19	12	12	64

* $p < 0.05$ by Mantel-Haenszel Chi-Square (ridit scores)

IV. 고 찰

PCNA는 36kDa의 세포핵 내 단백질이며 DNA polymerase delta의 보조 단백질로서 세포가 증식하는 동안 DNA 합성에 필수적이며 세포 분화중 주로 G1 후기와 S기에 증가한다.^{5,20,21)} 즉, G1 후기와 S 초기에 2-3배 증가하였다가 G2기에 정지한 후 G2/M기에 감소한다. 따라서 PCNA 단세포 항체는 유세포 분석에서의 S기 측정 기준이 되며 파라핀 포매조직에서도 세포증식을 추정하는 기준으로 이용 가능하다.^{24,25)}

세포분열을 나타내는 표지자인 PCNA와 Ki 67 등에 대한 단세포 항체를 이용한 면역조직화학염색법이 최근 세포 증식 정도를 측정하는 데 이용되고 있으며 이러한 PCNA 발현 검사 방법은 검사하는 종양 조직의 구조가 유지되고 개개의 증식세포를 볼 수 있으며 직접 증식 정도를 판단할 수 있는 간편한 점 등의 장점을 지니고 있어 세포생식능을 검사하는 데 널리 이용되고 있다.²⁴⁻²⁶⁾

자궁경부의 정상 상피세포에서는 유사분열이 거의 관찰되지 않으며 간혹, 기저층에만 국한되어 나타난다. 자궁경부 상피내종양에서는 상피세포가 정상 자궁경부에 비해 비정상적으로, 유사분열이 빈번히 기저층위의 상피층 전체에서 관찰된다.¹⁵⁻¹⁷⁾ 자궁경부 상피내종양의 진단은 유사분열의 정도에 근거되기도 하나 인유두종 바이러스 감염에 의한 세포학적 변화는 자궁경부의 비정형성 정도를 증가시켜 단계적 자궁경부 상피내종양의 진단을 어렵게 한다.¹⁸⁾

정상 자궁경부 상피세포에서의 PCNA 발현 양상은 정상 피부 상피세포에서의 발현 양상과 유사하며²⁷⁾ PCNA 발현 양상과 Ki 67 발현 양상과도 유

사하다.²⁸⁾

Penneys 등²⁷⁾은 피하 편평상피세포 영기 암과 심상성 사마귀(verruca vulgaris)에서의 PCNA 발현은 자궁경부 병변에서의 발현 양상과 유사하며 병변의 조직학적 경계에서 소멸되는 양상도 유사하다고 하였다. 각화극세포종(keratoacanthoma) 등과 같은 피부의 다른 증식성 병변에서는 PCNA 발현이 증가하지 않는 것으로 보아 이는 PCNA 발현 양상이 인유두종 바이러스에 의한 상피세포 증식 장애를 나타내는 것이기 때문에 자궁경부의 koilocyte에서도 PCNA의 양성 반응을 나타낸다고 하겠다.²⁷⁾ Kato²⁹⁾에 의하면 NIH 3T3 세포주에서 인유두종 바이러스 16형 E6/E7이 생성됨으로써 PCNA 발현을 증가시킨다고 하여 PCNA 발현이 인유두종 바이러스 감염과 관계가 있다는 것을 보고하였다.

PCNA 발현 양상은 자궁경부 질환의 세포주기 변화를 예측할 수 있으며 자궁경부 병변의 생물학적 변화를 설명할 수 있다.³⁰⁾ 또한 PCNA 발현이 자궁경부의 양성 질환시 상피의 기저세포층위 세포층에서도 발견되는 것은 염증에 의한 상피세포의 turnover와 PCNA의 반감기가 약 20시간으로 길기 때문이며⁷⁾ 자궁경부 상피세포가 분비하는 성장인자도 PCNA 발현을 증가시킨다고 알려져 있다.³¹⁻³³⁾

자궁경부에서는 정상 상피세포가 기저층에서 PCNA를 발현하는데 반해, 상피내종양에서는 상피층 전체에 걸쳐 PCNA가 발현되며 또한 정상 자궁경부에 비해 자궁경부 상피내종양이나 자궁경부암에서 PCNA 양성인 세포가 많이 존재한다고 연구 보고되었다.¹⁸⁾ 본 연구에서는 PCNA 지수가 자궁경부 상피내종양 I에서 전 상피층의 $23.8 \pm 4.8\%$, 자궁경부 상피내종양 II에서 $35.2 \pm 6.4\%$, 자궁경부 상피내종양 III에서 $48.9 \pm 5.3\%$ 로 자궁경부 상피내종양의 단계가 진행될수록 증가하였으며 정상 자궁경부에서보다 PCNA 양성인 세포가 많이 존재함을 보였다. PCNA grade와 조직병리학적으로 자궁경부 상피내종양의 분류 단계가 일치하는 경우는 51.6%로 자궁경부 상피내종양의 단계가 진행될수록 PCNA grade는 증가하는 결과를 나타내었다. 이러한 연구결과는 상피내종양 단계에 따라 증식된 세포에 차이가 있음을 나타내는 것으로 PCNA 발현의 차이를 보이며 이러한 PCNA 발현 정도에 따라 자궁경부 상피내종양을 진단할 수 있다고 하겠다.

또한 자궁경부 상피내종양의 이행성층에 따른 PCNA 지수는 통계학적으로 유의하지 않은 결과를

보인 것은 이형성층에 따른 세포증식 기능은 별다른 차이가 없음을 나타낸다고 할 수 있다.

유사분열 지수는 자궁경부 상피내종양 I에서 전 상피층의 $0.01 \pm 0.04\%$, 이형성층의 $0.08 \pm 0.06\%$, 자궁경부 상피내종양 II에서 $0.54 \pm 0.09\%$, 0.69 ± 0.12 , 자궁경부 상피내종양 III에서 $1.29 \pm 0.34\%$, $1.05 \pm 0.44\%$ 로 자궁경부 상피내종양의 단계가 따라, 이형성층 정도에 따라 유사분열 지수는 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다. mitotic grade와 자궁경부 상피내종양의 분류단계가 일치하는 경우는 76.6%로 자궁경부 상피내종양의 단계가 진행될수록 mitotic grade는 증가하였으며 53.2%에서 PCNA grade와도 일치하여 PCNA grade가 증가할수록 mitotic grade도 증가하는 결과를 나타내었다. 이는 유사분열 지수는 PCNA 지수와는 달리 세포주기의 M기를 나타내면서 자궁경부 상피내종양의 전암병변의 정도를 알 수 있는 지표로, mitotic grade도 자궁경부 상피내종양을 진단하는 데 도움이 된다고 하겠다.

그러나 48.4%에서는 PCNA grade와 자궁경부 상피내종양 분류단계가 일치하지 않았으며, 이 중 PCNA grade가 높은 경우가 34.4%였다. PCNA grade가 자궁경부 상피내종양의 단계보다 높은 것은 자궁경부 상피내종양을 나타내는 미성숙세포층 위에 성숙한 PCNA 발현됨을 의미하며, 이는 PCNA 발현증가가 자궁경부 병변의 형태학적 변화보다 선행된다는 것으로 설명될 수 있다. PCNA 발현은 자궁경부 병변에서 형태학적 변화를 일으키기 전에 이형성변화를 나타내기 때문에 자궁경부 상피내종양의 단계와 PCNA 발현이 일치하지 않는 경우가 발생하며 조직생검에 의해 오진된 자궁경부 상피내종양의 field effect에 의한 PCNA 발현으로 설명할 수도 있다. 이러한 PCNA 발현을 증가시키는 field effect가 유방암과 췌장암 주위 정상 조직에서도 발견된다고 알려져 있다.²⁴⁾

PCNA나 Ki 67 등과 같은 세포주기에 관계된 항체들은 현재 위암³⁴⁾이나 난소암^{35,36)} 방광암³⁷⁾ 등 여러 가지 암의 예후인자로 이용되고 있으며 자궁경부암 성장율의 지표로,^{1,8)} 자궁경부암의 예후를 반영하는 지표로도 이용되고 있다.³⁸⁻⁴⁰⁾ 그러나 PCNA 발현 여부는 자궁경부암에서 기존에 임상적으로 이용되는 예후인자인 나이, 임상병기, 임파절 전이 여부 등과는 관련이 없다고 한다.³⁹⁾

자궁경부 조직 중 기질세포, 염중세포, 혈관 등은 PCNA에 반응하지 않고 상피세포와 인접한 내경부

선이 PCNA에 반응을 보이기 때문에³⁰⁾ PCNA 발현 양상의 이질성은 자궁경부 질환의 성장률 차이를 반영할 수 있으며 PCNA를 이용한 세포증식 정도도 평가가 가능하다고 하겠다.

본 연구에서는 환자의 월경력이 조사되지는 않았으나 Shurbaji 등¹⁸⁾에 의하면 호르몬 증가에 의한 정상 자궁경부에서 상피세포의 증식을 유도하는 원인이 되어 PCNA 발현과 관계된다고 연구 보고하였다. 월경력에 따른 자궁경부 상피내종양의 PCNA 발현에 차이를 연구해 보는 것이 PCNA 발현에 호르몬이 영향을 미치는지 알 수 있을 것이다.

본 연구결과로, 자궁경부암의 전암단계인 상피내종양의 진단에 PCNA 발현이 유용하게 이용될 수 있는 것으로 사료되며 앞으로, 자궁경부암에서의 PCNA 발현 정도와 비교 연구하여 PCNA 발현이 자궁경부암의 예후인자로 이용될 뿐만 아니라 암으로 이행하는 단계를 진단하는 보조적 방법으로 이용될 수 있는지를 확인하는 지속적인 연구가 필요하다.

V. 결 론

본 연구에서는 1994년 9월부터 1995년 2월까지 이화여자대학교 동대문병원을 내원한 환자 중 정상 자궁경부와 koilocytosis 환자 19예, 자궁경부 상피내종양 I 환자 15예, 자궁경부 상피내종양 II 환자 16예, 자궁경부 상피내종양 III 환자 14예를 대상으로 파라핀 포매조직을 이용하여 면역조직화학적 염색 방법을 시행한 후 PCNA 발현 여부를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. PCNA 지수는 자궁경부 상피내종양 I에서 전 상피층의 $23.8 \pm 4.8\%$, 자궁경부 상피내종양 II에서 $35.2 \pm 6.4\%$, 자궁경부 상피내종양 III에서 $48.9 \pm 5.3\%$ 로 자궁경부 상피내종양의 단계가 진행될수록 증가하였다.

2. PCNA grade와 자궁경부 상피내종양 분류단계가 일치하는 경우는 51.6%였고 PCNA grade가 높은 경우는 34.4%, 낮은 경우는 14.0%로 자궁경부 상피내종양의 단계가 진행될수록 PCNA grade는 증가하였다($p < 0.05$).

3. 유사분열 지수는 자궁경부 상피내종양 I에서 전 상피층의 $0.01 \pm 0.04\%$, 자궁경부 상피내종양 II에서 $0.54 \pm 0.09\%$, 자궁경부 상피내종양 III에서

1.29±0.34%로 자궁경부 상피내종양의 단계가 따라 유의한 차이가 있었다(p<0.05).

4. mitotic grade와 자궁경부 상피내종양 분류단계가 일치하는 경우는 76.6%였고 mitotic grade가 높은 경우는 14.0%, 낮은 경우는 9.4%로 자궁경부 상피내종양의 단계가 진행될수록 mitotic grade는 증가하였다.

5. PCNA grade와 mitotic grade와 일치하는 경우는 53.2%였고 PCNA grade가 mitotic grade보다 높은 경우는 35.9%, 낮은 경우는 10.9%로 PCNA grade가 증가할수록 mitotic grade도 증가하였다(p<0.05).

본 연구결과로 자궁경부암의 전암단계인 상피내종양의 진단에 PCNA 발현이 유용하게 이용될 수 있으나 상피내종양에서 자궁경부으로 이행하는 단계를 진단하는 보조적 방법으로 이용될 수 있는지와 호르몬 영향에 따른 PCNA 발현 차이에 대해서는 지속적인 연구가 필요할 것이다.

- References -

1. Miyachi K, Pritzler MJ, Tan EM : Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. J immunol 1978;121:2228-2234.
2. Plehlich G, Kostura M, Marshak DR : The cell-cycle regulated proliferating cell nuclear antigen is required for SV40 DNA replication in vitro. Nature. 1987;326:471-475.
3. Bravo R, Celis JE : A search for differential polypeptide synthesis throughout the cell cycle of HeLa cells. J Cell Biol 1980;84:795-802.
4. Bravo R, Frank r, Blundell P, Macdonald bravo H : Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase delta. Nature 1987;326:515-517.
5. Celis JS, Celis A : Cell cycle dependent variation in the distribution of the nuclear protein cyclin/proliferating cell nuclear antigen in cultured cells : a subdivision of S phase. Proc Natl Acad Sci USA. 1985;82:3262-3266.
6. Sarraf CE, McCormick CSF, Brown CR, Price YE, Hall PA, Land DP, Alison MR : Proliferating cell nuclear antigen immunolocalization gastrointestinal epithelia. Digestion 1991;50:85-91.
7. Bravo R, Macdonald Bravo H : Existence of two populations of cyclin, proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle : Association with DNA replication sites. J cell Biol 1987;105:1549-1554.
8. Gerdes J, Schwab U, Lemke H : Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. Int J Cancer 1983;31:13-20.
9. Robbins BA, Vega D, Ogata K, Tan EM, Nakamura RM : Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen in solid human malignancies. Arch Pathol lab Med 1987;841-846.
10. Yu CCW, Christopher DM, Newman PL, Goodlad JR, Burton JC, Levison DA : A comparison of proliferating cell nuclear antigen(PCNA) immunostaining, nuclear organizer region(AgNor) staining, and histological grading in gastrointestinal stromal tumors. J of Pathol 1992;166:147-152.
11. Nakopoulou L, Janinis J, Panagos G, Comin G, Pavaris P : Proliferating cell nuclear antigen(PCNA/cyclin) in malignant and benign epithelial ovarian neoplasms and correlation with prognosis, Eng J cancer 29A. 1993;11:1599-1601.
12. Thomas H, Nasim MM, Sanrat CE, Aloson MR, Love S, Lambert HE, Price P : Proliferating cell nuclear antigen(PCNA) immunostaining a prognostic factor in ovarian cancer. British Journal of cancer 1995;71:357-362.
13. Hareyama H, Ohkohchi T, Takeda N, Nishiya M, Tsumura N, Ohkubo H, Sakuragi N : Proliferative activity of endometrial cells and endometrial cancer cells using the monoclonal antibody PCNA. ACTA Obst Gynaec Jpn 1992;4:609-610.
14. Robertson AJ, Anderson JM, Beck JS : Observer variability in histopathological reporting of cervical biopsy specimens. J Clin Pathol 1989;42:231-236.
15. Fu Ys, Reagan JW : Pathology of the Uterine Cervix, Vagina, and Vulva. Philadelphia : WB Saunders. 1989;225-335.
16. Ferenczy A, Winkler B : Cervical intraepithelial neoplasia and condyloma. In : Kurman RJ, ed. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. New York : Springer-Verlag. 1987;177-217.
17. Chi C, rubio C, Langerlof B : The frequency and

- distribution of mitotic figures in dysplasia and carcinoma in situ. *Cancer* 1977;39:1218-1223.
18. Shurbaji, MS, Brooks, SK, Thurmond TS : Proliferating cell nuclear antigen immunoreactivity in cervical intraepithelial neoplasia and benign cervical epithelium. *Anat Pathol* 1992;100:22-26.
 19. Richart RM : Cervical intraepithelial neoplasia : a review. In sommers SC ed. *Pathology annual*. New York : Appleton-Century-Crofts. 1973;8:301-328.
 20. Morris GF, Mathews MB : Regulation of proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle. *J Biol Chem* 1989;264:13856-14864.
 21. Linden MD, Torres FX, Kubus J : Clinical application of morphologic and immunocytochemical assessments of cell proliferation. *Am J Clin Pathol* 1992;97(suppl 1):4-13.
 22. Landberg G, Goran R : Antibodies to proliferating cell nuclear antigen as S-phase probes in flow cytometric analysis. *Cancer Res* 1991;51:4570-4574.
 23. Garcia RL, Coltrera MD, Gown AM : Analysis of proliferative grade using anti-PCNA/Cyclin monoclonal antibodies in fixed, embedded tissues : comparison with flow cytometric analysis. *Am J Pathol* 1989;134:733-739.
 24. Hall PA, Levison DA, Oods AL, Yu CW, Kellock DB, Watkins JA, Barnes dm Gillett CE, Camplejohn R, Dover R, Waseem NH, Lane DP : Proliferating cell nuclear antigen(PCNA) immunolocalization in paraffin sections: an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. *J Pathol* 1990;162:285-294.
 25. Allegranza A, Girlando S, Arrigoni GL, Veronesi S, Mauri FA, Gambacorta M, Pollo B, Dall-Palma P, Barbareschi M : Proliferating cell nuclear antigen expression in central nervous system neoplasm. *Virchows Arch. A Pathol Anal Histopathol* 1991; 419:417-423.
 26. Kamel OW, EL Brun DP, Davis RE, Berry CJ, Warmke RA : Growth fraction estimation of malignant lymphomas in formalin-fixed paraffin embedded tissue using anti-PCNA cyclin 19A2. Correlation with Ki67 labelling. *Am J Pathol* 1991;138:1471-1477.
 27. Penneys NS, Bogart M, Sisto M : PCNA expression in cutaneous keratinous neoplasms and verruca vulgaris. *Am J Pathol* 1992;141:139-142.
 28. Konishi I, Fujii S, Nonogaki H, Nanbu Y, Iwai T, Mori T : Immunohistochemical analysis of estrogen receptors, progesterone receptors, Ki-67 antigen, and human papillomavirus DNA in normal and neoplastic epithelium of the uterine cervix. *Cancer* 1991;68:1340-1350.
 29. Kato N : The study on in vitro transformation by human papillomavirus type 16 E6/E7 region. *Hokkaido J Med Sc* 1989;64:318-327.
 30. Karakitos P, Kyroudes A, Apostolaki C, Paizi P, Voulgaris Z, Alekou G, Kyrkou K : The evaluation of PCNA/cyclin expression in cervical intraepithelial lesions. *Gyne Oncol* 1994;55:101-107
 31. Jaskulski D, De Riel JK, Mercer WE, Calbretta B, Baserga R : Inhibition of cellular proliferation by antisense oligonucleotides to PCNA Cyclin. *Science* 1988;240:1544-1546.
 32. Bravo, R., and MacDonald-Bravo, H : Induction of the nuclear protein cyclin in quiescent mouse 3T3 cells stimulated by serum and growth factors. Correlation with DNA synthesis, *EMBO J* 1984;3:3177-3181.
 33. Bravo, R., MacDonald-Bravo, H : Changes in the nuclear distribution of cyclin(PCNA) but not its synthesis depend on DNA replication, *EMBO J* 1985; 4:655-661.
 34. Jain S, Filipe MI, Hall PA, Waseem NH, Lane DP, Levison DA : Prognostic value of PCNA in gastric carcinoma. *J Clin Pathol* 1991;44:655-659.
 35. Rutgers DH, Wilsis, Schaap AH, van Lindert AC : DNA flow cytometry, histological grade, stage and age as prognostic factors in human epithelial ovarian carcinomas. *Pathol Res Pract*, 1987;182:207-213.
 36. Kallioniemi OP, Punnonen R, Mattila J, Lehtinen M, Koivula T : Prognostic significance of DNA index, multiploidy and S-phase Fraction in ovarian cancer. *Cancer* 1988;61:334-339.
 37. Lipponen PK, Eskelin MJ : Cell proliferation of transitional cell bladder tumours determined by PCNA/cyclin immunostaining and its prognostic value. *Br J Cancer* 1992;66:171-176.
 38. Masuda T, Yabushita H, Sawaguchi K, Noguchi M, Nakanishi M : Immunohistochemical assessment of

- the growth fraction in cervical cancers using the monoclonal antibody Ki-67 ; relationship to the clinical stage, histologic type and DNA content. Asia-Oceania J Obstet Gynaecol 1992;18:81-87.
39. Cole DJ, Brown DC, Crossley E, Alcock CJ, Gatter KC : Carcinoma of the cervix uteri : an assessment of the relationship of tumour proliferation to prognosis. Br J Cancer 1992;65:783-785.
40. Oka K, Hoshi T, Arai T : Prognostic significance of the PC10 index as prospective assay for cervical cancer treated with radiation therapy alone. Cancer 1992;70:1545-1550.
-