

p16^{INK4A}의 면역조직화학적 염색을 이용한 자궁경부 종양의 진단

가톨릭대학교 의과대학 산부인과학교실

권지영·정미영·최미나·이성하·장동규·류기성·나종구·한구택

목적 : 정상 조직, 전구 병변 및 자궁 경부암을 무작위로 선택하여 이들에게서 면역 조직화학적 염색법을 이용하여 p16^{INK4A}의 발현을 조사하고 HPV 감염 상태와의 관련을 조사함으로써 p16^{INK4A}의 측정이 자궁 경부 조직 표본이나 세포 도말 표본에서 종양 세포들의 진단 가능성을 확인하고 자궁 경부 세포진에서 발생하는 높은 위음성율의 문제를 감소시킬 수 있는지 알아 보기 위해 본 실험을 실시하였다.

연구 방법 : 포르말린에 고정하고 파라핀에 포매된 보관 조직으로부터 H&E 염색으로 진단이 확인된 조직 절편으로부터 정상, 불현성 인유두종 바이러스 감염(이하 SPI), 이형증, 상피내암 및 침윤암 조직을 무작위로 선별하여 p16^{INK4A} 항체를 이용한 면역조직 화학적 염색을 실시하였다. 대상 환자들의 HPV 형의 분석결과는 병력 기록지를 참고하였다.

결과 : 3예의 정상적인 조직은 모두 p16^{INK4A}에 음성 반응을 나타내었다. 2예의 SPI, 4예의 이형증, 5예의 상피내암 및 5예의 자궁 경부암의 조직 절편의 변성 부위에서는 모두 p16^{INK4A}에 양성 반응을 나타내었고 인접한 정상 상피조직에서는 전혀 양성 반응이 나타나지 않았다.

결론 : p16^{INK4A}를 이용한 면역 조직화학적 염색은 자궁 경부 조직절편에서 종양 세포들을 동정하는데 매우 유용할 것으로 판단된다.

중심단어 : 자궁 경부종양, p16^{INK4A}, 면역 조직화학적 염색, HPV

서 론

자궁경부암은 전 세계적으로는 연간 40만명의 새로운 환자가 발생하며, 연간 사망률도 약 25만명에 달하고 있고¹, 우리 나라에서는 전체 암 중에서는 발병률이 6위, 여성에서 발생하는 암 중에서는 3위를 차지하고 있어 국민 보건상 중대한 문제가 되고 있다.² 1939년 도입된 자궁 경부 선별 검사 방법인 Pap 도말검사법은 자궁 경부암의 발생 빈도와 사망률을 감소시키는데 크게 기여 하였다.³ 그러나 후진국은 물론 선진국의 많은 여성들에서 여전히 자궁 경부암이 발생하고 있을 뿐만 아니라,⁴ 적절한 선별 검진을 받아온 여성에서도 자궁 경부암이 발생한다.¹ 이는 주로 Pap 검사를 위한 표본 채취의 오류와 비정상 세포들의 판독의 오류에 기인한 20-35%의 낮

은 민감도로 반복세포진과 침습적 검사 또는 치료로 비용을 낭비시키는 원인이 된다.⁵ 따라서 자궁 경부암의 진단과 선별검사의 정확도를 개선시킬 수 있는 민감도와 특이도가 높은 생물학적 지표의 개발이 절실히 요구되고 있다. 이러한 노력의 일환으로 최근에 증식 관련 항원인 Ki-67⁶과 DNA 복제와 관련된 항원인 cell division cycle 6 (CDC6)과 minichromosome maintenance protein 5 (MCM5) 항원⁷들에 관심이 모아지고 있으나 정상적 증식세포와 이형성 증식세포 간의 감별이 어려워 임상적 이용이 제한되고 있다.

자궁경부 이형증은 고위험 인유두종 바이러스(HPV)의 지속적인 감염으로부터 시작되며, HPV E6는 p53 단백을 파괴하고,⁸ HPV E7 단백질은 pRB를 불활성화하여⁹ p16^{INK4A}의 발현이 증가한다.¹⁰ 따라서 지속적인 HPV 감염으로 바이러스 암유전자들의 조절 이상이 발생한 이형증 병변에서는 pRB에 의한 p16^{INK4A} 발현의 음성 억제 조절이 해제되므로 p16^{INK4A}의 발현이 증가된다.¹⁰ 이는 p16^{INK4A}의 발현이 종양 세포들을 선별할 수 있는 생물

논문접수일 : 2005년 1월 14일
교신저자 : 한구택, 150-713 서울시 영등포구 여의도동 62번지
가톨릭대학교 의과대학 산부인과학교실
전화 : (02) 3779-1217 · 전송 : (02) 3779-1930
E-mail : nowonhkt@catholic.ac.kr

학적 지표일 가능성을 암시하는 것이다.

저자들은 포르말린 고정과 파라핀 포매된 자궁경부 조직으로부터 H&E 염색으로 진단이 확인된 정상과 종양 조직 절편을 무작위로 선택하여 면역조직화학적 염색법으로 p16^{INK4A}의 발현을 조사하였다. 또한 HPV DNA를 검사하여 p16^{INK4A}와 HPV 감염상태와의 상관관계를 조사해서, p16^{INK4A}측정이 조직 표본이나 세포 도말 표본에서 종양 세포들의 진단에 유용한지를 알아보았다.

연구 대상 및 방법

1. 대상 조직

대상 조직은 포르말린에 고정하고 파라핀에 포매된 보관 조직을 H&E 염색 후 병리의사에 의하여 진단이 확인된 정상 대조군(3예), 불현성 인유두종바이러스 감염(2예), 이형증(4예), 상피내암(5예) 및 침윤암(5예) 조직을 임의로 선택하였다. 정상 대조군은 자궁 경부의 병변이 아닌 다른 질환으로 자궁절제술을 실시한 3명의 환자들의 조직 절편을 이용하였다. 대상 조직이 채취된 환자들의 HPV DNA 검사 결과는 병력 기록지를 참고하였다.

2. p16^{INK4A}의 면역조직화학 염색

포르말린에 고정되고 파라핀에 포매된 조직 표본으로부터 4 µm 두께의 연속 절편들을 만들고 이들 중 하나의 절편은 hematoxylin과 eosin (H&E) 염색에 의한 조직 병리학 진단에 사용하였다. 나머지 절편으로는 면역조직화학적 염색에 이용하였다. 면역조직화학 염색은 먼저 희석한 항원 결정기 회복 용액으로 Coplin 용기를 채운 후 항온조에 위치시키고 뚜껑을 덮은 후 95-99℃로 가열하였다. 실온에서 파라핀이 제거된 절편을 항원 결정기 회복 용액이 들어 있는 용기내에 담그고 95-99℃에서 40분간 방치하였다. 슬라이드가 들어 있는 용기를 항온조로부터 꺼내어 실온에서 20분간 식혔다. 절편을 염색하기 전에 세척용 완충용액에 5분간 담근 후 조직 절편에 200 µl의 peroxidase- blocking 시약과 함께 5분간 방치하였다. 세척한 후 200 µl의 p16^{INK4A} 항체(clone E6H4, DAKO, Glostrup, Denmark) 또는 음성 대조군 시약을 가하고 30분간 방치하였다. 세척한 후 200 µl의 시

각화용 시약을 가하여 30분간 반응시키고, 200 µl의 substrate-chromogen 용액(DAB)을 가하고 10분간 반응시켰으며, 대조 염색을 위해 슬라이드를 hematoxylin이 들어 있는 용기에 담그고 2-5분간 방치하였다. 다음 슬라이드에 수성 mounting medium인 Gycergel (DAKO, Glostrup, Denmark)을 가하여 cover 슬라이드로 덮어 제작하였다. 면역조직 염색을 한 조직 절편은 두 명의 관찰자에 의하여 평가되었고 세포내와 핵내의 강한 염색 반응을 양성으로 판정하였다. p16^{INK4A} 양성 반응의 분포는 반정성적으로 점수를 산정하였다. p16^{INK4A}에 염색된 세포들이 1% 이하일 경우에 음성으로 판정하였으며, 1% 이상인 경우를 양성으로 판정하였다. 제작된 슬라이드를 현미경하에 관찰하였으며 비교를 위하여 H&E

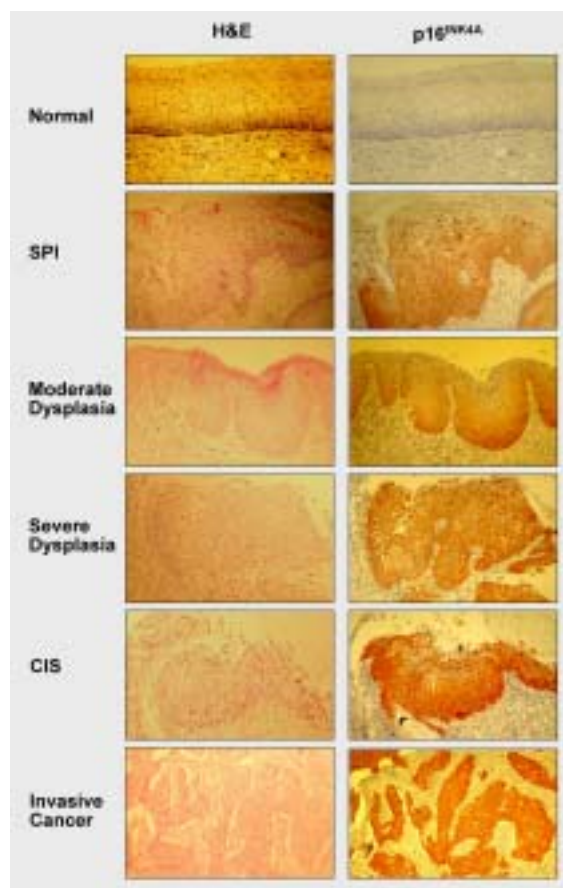


Fig. 1. H&E and p16^{INK4A} immunohistochemical stains in the formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. SPI: Subclinical papillomavirus infection. CIS: Carcinoma in situ. H&E: Hematoxylin and eosin stain. p16^{INK4A}: Immunohistochemical stain for p16^{INK4A}

염색 표본과 p16^{INK4A} 면역조직화학적 염색의 위치가 같은 조직 절편의 부분에서 사진을 촬영하였다.

3. 통계 분석

정상 조직과 불현성 인유두종 바이러스 감염, 이형증, 상피내암 및 침윤암을 포함하는 비정상 조직 군에서 면역 조직 염색을 통한 p16^{INK4A} 발현 정도의 차이는 Fisher's exact test로 분석하였다. 통계자료 분석은 SPSS version 11.5를 이용하였다.

결 과

자궁 경부의 병변이 없었던 3예의 정상 조직 절편에 대한 면역 염색은 모두 p16^{INK4A}에 음성이었다(Fig. 1). 이와는 반대로 2예의 불현성 인유두종 바이러스 감염(subclinical papillomavirus infection: SPI), 4예의 이형증(2예의 중등도 이형증과 2예의 고도 이형증), 5예의 상피내암(CIS) 및 5예의 침윤성 자궁 경부암들에서는 모두 p16^{INK4A}에 강한 양성을 나타내었다. 즉, 자궁 경부 이상 병변 16예 모두에서 p16^{INK4A}양성을 나타내었다. 정상 조직에 비해 자궁 경부 이상 조직에서 면역조직화학 염색을 통한 p16^{INK4A} 발현율이 유의하게 높았다(P=0.001, Fisher's exact test).

불현성 인유두종 바이러스 감염과 중등도 이형증에서는 koilocyte와 상피층의 중하부에서 주로 p16^{INK4A} 양성 염색 소견을 나타내었고 형태학적으로 정상적인 상부의 상피층에 존재하고 있는 세포들에서는 양성 소견을 나타내지 않았다. 이와는 달리 고도 이형증 상피에서는 모든 상피층이 강한 p16^{INK4A} 양성을 나타내었다(Fig. 1, Table 1). 또한 상피내암의 전상피층은 물론 조직내에 위치한 상피내암 병변의 종양 세포들에서도 모두 p16^{INK4A}에 양성 소견이 관찰되었으며, 침윤암의 경우에는 조직내 모든 침윤된 장소를 따라 강한 p16^{INK4A} 양성을 관찰할 수 있었다. 상피내암의 경우에 이들과 인접한 정상 상피조직 내에서는 전혀 염색되지 않았다(Fig. 2, Table 1). 대부분의 세포들에서 양성 염색을 나타낸 장소는 세포질 내였으며, 핵내에서만 양성 반응을 나타낸 경우는 없었다.

3예의 정상 자궁경부 상피 중 HPV DNA검사를 실시

하였던 1예에서 고위험 HPV 33이 검출되었고, 2예의 불현성 HPV 감염(SPI)의 경우에는 모두 고위험 HPV 51, 39와 58이 발견되었다. 4예의 상피 이형증에서 HPV 검사를 실시하였던 경우는 3예이었고 이 중 1예에서 HPV 양성이었다. 또한 상피내암 5예 중 3예에서 HPV 검사를 실시하였으나 2예가 HPV 양성이었으며, 이중 2예는 고위험 HPV 감염이었고, 1예에서는 저위험 HPV 14, 41과 고위험 HPV 16,33,51의 혼합 감염을 나타내었다. 침윤암 환자의 경우에는 5예 중 2예에서만 HPV 검사가 실시되었으며, 이들 중 1예에서는 고위험 HPV 16이 발견되었고 다른 1예는 고위험 HPV 56이 발견되었다(Table 1). HPV DNA 양성인 8예 중 HPV type을 분석했던 7예에서 모두 고위험 HPV로 나타났다. 또한 HPV DNA 양성이었던 8예 중 H&E 염색에서도 정상 조직 소견으로 판독되었던 1예를 제외하고 7예(87%)에서 모두 p16^{INK4A}가 발현되었다. 정상 조직군과 비정상 조직군간의 HPV 발현 정도의 차이는 대상 수가 적어서 통계처리를 시행하지 않았다.

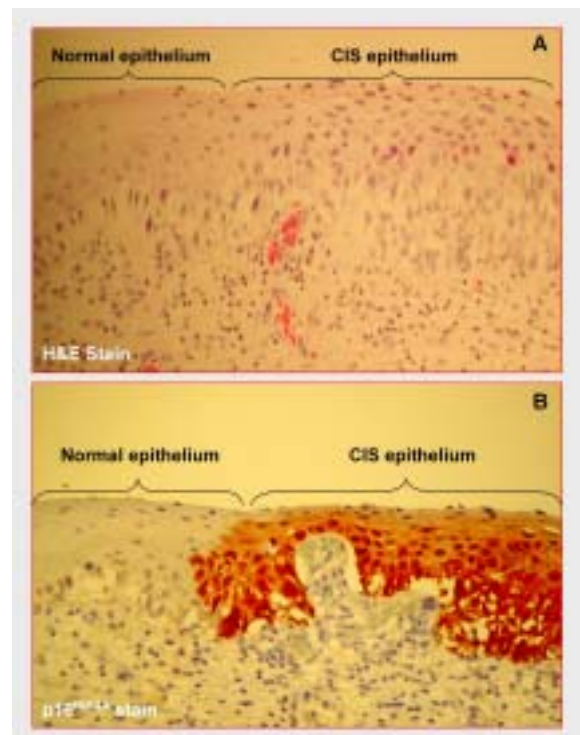


Fig. 2. A: H&E stain of CIS epithelium. B: p16^{INK4A} stain in the same CIS epithelium, showing sharp contrast of p16^{INK4A} stain between normal and CIS epithelium.

Table 1. Summary of expressions of p16^{INK4A} and HPV status on the histologic diagnosis in cervical tissue sections

Histologic Diagnosis	Number	p16 ^{INK4A} Expression	HPV	
			Status	Type
Normal	3	Negative	ND	ND
		Negative	ND	ND
		Negative	Positive	HR HPV 33
SPI	2	Positive	Positive	HR HPV 51
		Positive	Positive	HR HPV 39, 58
Dysplasia	4	Positive	Negative	ND
		Positive	Negative	ND
		Positive	Negative	ND
		Positive	ND	ND
CIS	5	Positive	ND	ND
		Positive	ND	ND
		Positive	Negative	ND
		Positive	Positive	ND
		Positive	Positive	HR HPV 16, 33, 51 LR HPV 14, 41
Invasive Carcinoma	5	Positive	ND	ND
		Positive	ND	ND
		Positive	ND	ND
		Positive	Positive	HR HPV 16
		Positive	Positive	HR HPV 56

SPI: Subclinical papilloma virus infection

HPV: Human papillomavirus

CIS: Carcinoma in situ

HR: High risk

LR: Low risk

ND: Not detected

고 찰

자궁 경부암의 진단과 선별검사의 정확도를 개선시킬 수 있는 생물학적 지표가 절실히 필요함에 따라 증식 관련 항원인 Ki-67,⁶ DNA 복제와 관련된 CDC6, MCM5 항원들과 transmembrane 단백질로서 carbonic anhydrase 도메인을 포함하고 있는 MN (또는 CA IX) 항원들¹¹의 이용 가능성에 대해 관심이 모아지고 있다. 그러나 정상 세포들에서도 양성 발현이 관찰될 뿐만 아니라 종양세포들에서 모두 발현되는 것이 아니므로 임상적 이용이 제한되고 있다.^{7,12}

자궁경부 종양은 인유두종 바이러스의 감염에 의해 시작되며,^{13,14} 특히 HPV 16과 18의 E6와 E7 유전자가 특

정 단백질들과 상호 작용으로 암을 유발시킨다고 알려져 있다.¹⁴ 즉 HPV E6 단백질은 p53 종양 억제 단백질의 조기 분해를 유발하며,⁸ HPV E7 단백질은 Cyclin-dependent kinase (CDK)인 CDK4와 CDK6를 과발현시키거나,¹⁵ 종양 억제 단백질인 pRB와 결합하여 pRB를 불활성화시키며, 이때 유리된 E2F 전사 인자에 의해 G₁/S 분기 이행이 진행되며,¹⁰ 불활성화된 pRB는 CDK4와 CDK6의 억제 인자인 p16^{INK4A}의 발현을 증가시키는 것으로 알려져 있다.¹⁰ 이러한 일련의 보고들은 p16^{INK4A}의 측정이 자궁경부 종양의 진단에 유용한 생물학적 지표일 가능성을 암시하는 것들이다.

이상의 보고들을 배경으로 Klaes 등¹⁶은 면역조직화학적 염색법을 이용하여 자궁경부 조직 표본에서 p16^{INK4A}

의 발현을 조사하였으며, 저위험 HPV가 감염된 CIN I (cervical intraepithelial neoplasia grade 1)을 제외한 모든 CIN 병변과 거의 모든 침윤암에서 p16^{INK4A}의 강한 발현을 관찰하였으나, 이외는 달리 정상 자궁경부 상피 세포나 염증성 병변, 저위험 HPV가 감염된 CIN I들에서는 p16^{INK4A}의 발현을 관찰하지 못하였다. 또한 자궁경부 도말 표본의 이형증 세포들에서도 p16^{INK4A}의 일치된 발현을 관찰함으로써 p16^{INK4A}의 발현이 자궁경부 조직 표본과 도말 검사상 종양 세포를 확인할 수 있는 분명한 생물학적 지표임을 강조하였다.¹⁶ 본 연구에서는 정상 조직에서는 p16^{INK4A} 단백질이 발현되지 않았던 반면, 종양 세포들이 존재하는 모든 병변들에서 통계학적으로 유의하게 강한 p16^{INK4A} 단백질의 발현을 관찰할 수 있었다. 또한 중등도 이형증의 경우에 H&E의 조직 진단과 일치된 상피층의 중하부 세포들이 p16^{INK4A} 양성 발현을 나타낸 반면, 고도 이형증에서는 전체 상피층에서 강한 p16^{INK4A} 발현을 관찰할 수 있었다. 자궁경부 상피내암의 경우에는 병변이 존재하는 상피의 모든 층을 포함하여 조직내에 위치한 상피내암의 세포들도 모두 p16^{INK4A} 양성 발현을 나타내었으며, 침윤암의 경우에도 침윤 장소를 따라 강한 p16^{INK4A} 양성 발현이 관찰되었다. 흥미롭게도 상피내암의 경우에 암세포들이 존재하는 상피내에서 강한 p16^{INK4A} 양성 발현을 나타낸 것과는 달리 이와 인접한 정상 상피내에서는 p16^{INK4A} 양성 발현이 전혀 관찰되지 않았는데, 이러한 점으로 미루어 정상과 종양 세포간에 p16^{INK4A} 발현 양상의 차이가 분명함을 확인하였다. 따라서 비록 표본수는 작지만 본 연구의 결과는 p16^{INK4A}가 자궁 경부 이형성증 이상의 병변에서 새로운 표지 인자가 될 수 있음을 시사하고 있다.

면역조직화학적 염색시 p16^{INK4A}가 발현되는 세포내 부위는 불현성 인두유종 바이러스 감염, 자궁 경부 이형성증, 상피내암, 침윤암 대부분에서 세포질이었으며, 핵내에서만 양성 반응을 나타낸 경우는 없었다. 기존의 문헌을 살펴보면 세포질 내에서 주로 염색된다는 보고와¹⁹ 핵내에서 주로 염색된다는 보고가²⁰ 모두 존재하고 있으므로, 관련 세포의 세포질 또는 핵에서 p16^{INK4A}가 과발현된 경우를 양성으로 판단하는 것이 타당하다. 그러나 세포질 또는 핵내 발현에 따른 병기의 차이나, 예후의 차이에 대하여 조금 더 연구 분석이 요구된다.

한편 HPV DNA 분석 결과에 따르면 p16^{INK4A}의 발현

이 관찰되지 않은 3예의 정상 상피 중 1예에서 고위험 HPV 33이었고, HPV의 감염을 조사한 10예의 종양 조직 중 HPV type을 분석한 6예 모두에서 고위험 HPV가 감염이 확인되었다. 한편 HPV DNA가 양성이었던 7예 중 6예에서 p16^{INK4A}가 발현되어 85%의 발현율을 보였는데 이것은 기존의 Wang 등²²이 보고한 77%에 비해 다소 높았다. 또한 p16^{INK4A}가 발현되지 않은 1예는 H&E염색에서도 정상 조직으로 판독되었던 예이다. 이렇게 높은 p16^{INK4A} 발현율은 p16^{INK4A}의 과발현이 HPV 감염으로 인해 파생되는 결과임을 다시 한 번 시사하고 있다. 그러나 HPV DNA가 음성이었던 4예에서도 모두 p16^{INK4A}가 발현되었는데 이 기전은 명확하지 않다. p16^{INK4A}의 발현 조절이 HPV 감염 외에 다른 기전이 있을 가능성도 배제할 수 없으므로 이 점에 대해서는 향후 조금 더 많은 연구가 필요하겠다.

결론적으로 조직 절편에서 p16^{INK4A}를 이용한 면역 조직화학적 염색에 대한 본 연구결과는 자궁경부로부터 채취한 조직 표본으로부터 이형증 세포들을 동정하는데 매우 유용할 것으로 생각되며, 자궁경부암 진단에 있어서 p16^{INK4A} 항체를 이용한 새로운 자궁경부암 진단법과 선별 검사방법의 개발 가능성을 암시하는 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Vizcaino AP, Marenco V, Bosch FX, Munoz N, Barros-Dios XM, Borras J, et al. International trend in incidence of cervical squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2000; 86: 429-43.
2. Bae JM, Won YJ, Jung KW, Park JG. Annual report of the central cancer registry in Korea 2000: based on registered data from 131 hospitals. *Cancer Res Treat* 2002; 34: 77-84.
3. Anderson GH, Boyes DA, Benedet JL, Le Riche JC, Matisic JP, Suen KC, et al. Organization and results of the cervical cytology screening program in British Columbia, 1955-85. *BMJ* 1988; 296: 975-8.
4. Sasieni PD, Cuzick J, Lynch-Farmery E. Estimating the efficacy of screening by auditing smear histories of women with and without cervical cancer. The National Coordinating Network for Cervical Screening Working Group. *Br J Cancer* 1996; 73: 1001-5.
5. Fahey MT, Irwig L, Macaskill P. Meta-analysis of Pap test accuracy. *Am J Epidemiol* 1995; 141: 680-9.
6. Isacson C, Kessis TD, Hedrick L, Cho KR. Both cell proliferation and apoptosis increase with lesion grade in cervical neoplasia but do not correlate with human papillomavirus type. *Cancer Res* 1996; 56: 669-74.
7. Williams GH, Romanowski P, Morris L, Madine M, Mills AD, Stoeber K, et al. Improved cervical smear assessment using

- antibodies against proteins that regulate DNA replication. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 14932-7.
8. Scheffner M, Huibregtse JM, Vierstra RD, Howley PM. The HPV-16 E6 and E6-AP Complex Functions. As a Ubiquitin-protein Ligase In the Ubiquitination of p53. *Cell* 1993; 75: 49-55.
 9. Dictor M, Ehinger M, Mertens F, Akeravall J, Wennerberg J. Abnormal cell cycle regulation in malignancy. *Am J Clin Pathol* 1999; 112: 40-52.
 10. Khleif SN, DeGregori J, Yee CL, Otterson GA, Kaye FJ, Nevins JR, et al. Inhibition of cyclin D-CDK4/CDK6 activity is associated with an E2F-mediated induction of cyclin kinase inhibitor activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 4350-4.
 11. Liao SY, Brewer C, Zavada J, Pastorek J, Pastorekova S, Manetta A, et al. Identification of the MN antigen as a diagnostic biomarker of cervical intraepithelial squamous and glandular neoplasia and cervical carcinomas. *Am J Pathol* 1994; 145: 598-609.
 12. Brewer CA, Liao SY, Wilczynski SP, Pastorekova S, Pastorek J, Zavada J, et al. A study of biomarkers in cervical carcinoma and clinical correlation of the novel biomarker MN. *Gynecol Oncol* 1996; 63: 337-44.
 13. Schiffman MH, Bauer HM, Hoover RN, Glass AG, Cadell DM, Rush BB, et al. Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 958-64.
 14. Zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 690-8.
 15. Sherr CJ. Cancer cell cycles. *Science* 1996; 74: 1672-7.
 16. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky, Ridder R, Rudy W, Petry U, et al. Overexpression of p16^{INK4A} as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J cancer* 2001; 92: 276-84.
 17. Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, Fukuda T, Nakajima T. Immunohistochemical overexpression of p16 protein associated with intact retinoblastoma protein expression in cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia. *Pathol Int* 1998; 48: 580-5.
 18. Hiram T, Miller CW, Wilczynski SP, Koeffler HP. p16 (CDKN2/cyclin-dependent kinase-4 inhibitor/multiple tumor suppressor-1) gene is not altered in uterine cervical carcinomas or cell lines. *Mod Pathol* 1996; 9: 26-31.
 19. Murphy N, Ring M, Killalea AG, Uhlmann V, O'Donovan M, Mulcahy F, Turner M, et al. p16^{INK4A} as a marker for cervical dyskaryosis: CIN and cGIN in cervical biopsies and ThinPrep smears. *J Clin Pathol* 2003; 56: 56-63.
 20. Wang JL, Zheng BY, Li XD, Nokelainen K, Angstrom T, Lindstrom MS, et al. p16^{INK4A} and p14^{ARF} expression pattern by immunohistochemistry in human papillomavirus-related cervical neoplasia. *Mod Pathol*. In press 2004.

Diagnosis of Cervical Neoplasia Using Immunohistochemical Staining of p16^{INK4A}

Ji Young Kwon, M.D., Mi Young Jeong, M.D., Mi Nah Choi, M.D.,
Sung Ha Lee, M.D., Dong Gue Jang, M.D., Ki Sung Ryu, M.D.,
Jong Gu Rha, M.D., Ku Taek Han, M.D.

*Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine,
The Catholic University, Seoul, Korea*

Objective : There is need for more objective diagnostic parameters to identify cervical dysplastic or neoplastic cells. So, we examined the p16^{INK4A} expression in the cervical tissues to evaluate the value of p16^{INK4A} as a diagnostic parameter.

Methods : We examined the p16^{INK4A} expression by immunohistochemical staining in normal cervical tissues (n=3), preneoplastic lesions (n=6), carcinoma in situ (CIS, n=5), and invasive carcinomas (n=5) of the cervix, which were selected randomly by H&E staining from the archives of formalin-fixed and paraffin-embedded tissues and we also examined the status of human papillomavirus (HPV) infection in the same tissues.

Results : The positive rates of p16^{INK4A} expression was significantly higher in all abnormal cervical tissues including subclinical papillomavirus infection (SPI), dysplasia, CIS, and invasive carcinoma than in normal cervical epithelium (p=0.001). Despite the strong expression of p16^{INK4A} in the area of CIS, no expression of p16^{INK4A} was observed in the area of normal epithelium in the vicinity of CIS. 11 cases among 19 cases of examined tissue samples were tested for HPV infection. Seven of them showed positivity for HPV DNA.

Conclusion : We herein demonstrated that p16^{INK4A} would be a sensitive and specific marker for the abnormal cervical cells in tissue sections. This approach will help to reduce interobserver variations in the histopathologic interpretation of cervical biopsy specimens.

Key Words : Cervical neoplasia, p16^{INK4A}, Immunohistochemical staining, HPV type
