

선양낭성암종(Adenoid Cystic Carcinoma)에서의 Glycosaminoglycan의 발현에 관한 연구

손창원 · 김경욱 · 김철환
단국대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

ABSTRACT

Study on expression of glycosaminoglycan in adenoid cystic carcinoma

Chang-Won Son · Kyung-Wook Kim · Chul-Hwan Kim
Department of Oral & Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, DanKook University

Adenoid cystic carcinoma is malignant tumor in salivary gland, and its behavior is very invasive. Of all malignant tumor adenoid cystic carcinoma is occurred in frequency of 4.4% in major salivary gland, and 1.29% in minor salivary gland. Histopathologically, adenoid cystic carcinoma is characterized by a cribriform appearance, and tubular form and solid nest type tumor can be seen. The tumor cell structure composed of modified myoepithelial cell, and basaloid cell. Extracellular matrix of this tumor cell contains variable ground substance with basement membrane component. Basement membrane matrix composed of collagen fibers, glycoproteins, proteoglycans, and its function is well known that it participate in differentiation, proliferation, and growth of tumor cell. Basement membrane molecule is essential for invasion of peripheral nerve, blood vessel, skeletal muscle in tumor cell of adenoid cystic carcinoma. In many studies, the tumor cell of adenoid cystic carcinoma containing modified myoepithelial cell participate in synthesis of proteoglycan.

In this study, tissue sample of adenoid cystic carcinoma of human salivary gland were obtained from 15 surgical specimen, and all specimen were routinely fixed in 10% formalin and embedded. Serial 4- μ m thick sections were cut from

paraffin blocks. the histopathologic evaluation was done with light microscopy. And, the immunohistochemical staining, characteristics of glycosaminoglycan were observed. For biochemical analysis of glycosaminoglycan, isolation of crude glycosaminoglycan from tumor tissue and Western blot analysis were carried out. With transmission electromicroscopy, tumor cell were observed. Biologic behavior of adenoid cystic carcinoma was observed with distribution and expression of basement membrane of glycosaminoglycan in tumor cells,

The results obtained were as follows:

1. In immunohistochemical study, chondroitin sulfate is positively stained in tumor cell and interstitial space, dermatan sulfate is weakly stained in ductal cell. but keratan sulfate is negatively stained.
2. In immunohistochemical study, heparan sulfate is strong positive stained in tumor cell and basement membrane, especially in invasion area to peripheral nerve tissue
3. In transmission electromicroscopic view, the tumor cells are composed modified myoepithelial cells, and contains many microvilli and rough endoplasmic reticulum.
4. In Western blot analysis, the expression of glycosaminoglycan is expressed mostly in heparan sulfate.

From the results obtained in this study, tumor cell of adenoid cystic carcinoma is composed modified myoepithelial cell, and glycosaminoglycan of basement membrane molecule of heparan sulfate and chondroitin sulfate participate in the development and invasiveness of adenoid cystic carcinoma by immunohistochemical study and western blot analysis.

Key words : Adenoid Cystic Carcinoma, Glycosaminoglycan, Basement membrane, Immunohistochemical study, Western blot analysis

I. 서 론

선양낭성암종은 대,소타액선에서 발생하는 악성 타액선 종양으로, 침습성이 매우 강하고, 신경주위의 침윤이 특히 심한 악성 종양으로서, 전체 악성 종양 중, 대타액선에서는 4.4%, 소타액선에서는 1.2%의 빈도를 보인다. 조직학적으로 관구조의 단면과 유사하여 원주세포종(cylinderoma)으로 명칭되기도 한 이 종양은 외과적 절제술의 치료 후 높은 재발률을 보인다. 임상적으로 5년 생존율은 비교적 높지만, 초기 치료 후 10-15년 내에 국소전이와 혈류전이로 인하여 약 40%이상의 재발을 보이는 낮은 완치율을 보이는 암종이다. 주로 50대 후반에 호발하며, 이하선, 악하선에서 가장 흔한 발병을 나타내고, 구강내의 구개부, 구강저의 소타액선에서도 나타난다¹⁻⁴⁾.

선양낭성암종은 조직병리학적으로 주로 사상체(cribriform)형을 이루고 있으며, 도관형(tubular form), 충실소(solid nest)형 등으로 구성되어 있다. 세포구조는 기저양 세포(basaloid cell), 또는 근상피세포(myoepithelial cell)로 구성되어 있다³⁾. 이전의 연구에 의하면 이러한 근상피 세포를 포함하는 다형성 선종(pleomorphic adenoma) 또는 선양낭성암종 세포에서 proteoglycan의 합성에 관여한다는 사실이 밝혀지게 되었다⁵⁾. 이 암종세포의 세포외 간질에는 기저막 성분을 포함하여 다양한 기질을 포함하고 있다. 기저막은 교원섬유, proteoglycan 및 glycoprotein으로 이루어져 있으며 세포의 분화, 형성 및 증식에 관여한다고 알려져 있으며, 막기질 성분은 선양낭성암종의 종양세포가 말초신경의 침습, 혈관 및 근육조직의 침습에 관여한다고 하였다⁶⁻⁸⁾.

최근 막기질 성분은 단클론항체검사를 이용한 면역조직화학적 검사의 발전으로 많은 조직과 장기에서의 proteoglycan의 분석이 가능하게 되었고 혈관이나 근육 등이나 기저막, 그리고 모든 연골조직 등에서의 proteoglycan의 합성 과정에 대하여 알 수 있게 되었다⁹⁾. Chondroitin sulfate와 dermatan Sulfate는 근육세포에서 생성되며, heparan sulfate는 혈관 및 동맥에서, keratan sulfate는 각막 및 연골에서 발생된다¹⁰⁻¹⁷⁾. Chondroitin sulfate는 정상 타액선에서 분비되는 분비과립도 나타나며, 이러한 막기질 성분은 양성종양인 다형성 선종에서도 나타난다¹⁸⁾.

선양낭성암종은 조직학적으로 각각의 암종세포군내에서 수많은 위낭공간을 형성하여 사상체 형태를 가지는 것이 특징적이다. 위낭은 근상피세포 형태의 암종 세포에

둘러싸인 모양을 하고 있고 기저막 성분을 포함하는 세포의 기질로 채워져 있다¹⁹⁻²³⁾. 위낭 내부에는 거의 세포성분은 없으나 암종 세포에서 세포간극으로 유리되는 세포외기질 성분들로 구성되어 있다²⁴⁻²⁷⁾. 세포 간질공간(stromal space)과 위낭 내부의 풍부한 기저막 성분은 기저막 부위의 풍부한 기질 성분이 선양낭성암종의 증식에 필수적이라는 것을 증명하고 있으며, 말초신경조직이나 혈관 및 근육으로의 빈번한 침윤현상은, 이 암종 세포가 기저막과 밀접한 관계를 가진다는 것을 증명하여 준다²⁶⁾. 또한 선양낭성암종 세포가 기저막을 포함하는 기질에서의 부착, 침입, 그리고 빠른 성장을 하고, 또한 이 암종 세포에서 세포의 기질 성분을 합성하고 또한 세포외기질로 분비하여 세포외에 저장시킴으로써, 그 성분들을 변화시킨다^{6-8, 28, 29)}.

본 연구에서는 선양낭성암종 종양세포 사이에 존재하는 proteoglycan의 분포, 종양세포의 기저막에서의 발현을 통한 생물학적 양태를 살펴 선양낭성암종의 발생과 그 침습성을 연구하여 두경부 암종의 하나인 선양낭성암종의 임상적 치료에 도움이 되 고자 하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구 재료

15례의 선양낭성암종을 절취하여 10% 중성포르말린에 고정후 4 μ m 파라핀 절편을 제작 하고 통법에 따라 H&E 염색 및 MT 염색을 시행하고 광학현미경하에서 조직병리학적 특징을 관찰하였다.

2. 면역조직화학적 검사

절취한 조직을 면역조직화학적 염색을 시행하여 조직병리학적 특징을 관찰하였다. 먼저 절취한 조직을 고정한 후 Poly-L-Lysine으로 처리된 슬라이드에 4-8 μ m 파라핀 절편을 제작하고 면역조직화학적 염색을 시행하기 위하여 절편을 0.3% H₂O₂에 5분간 부란시키고 10mM phosphate buffer solution(PBS)으로 세척한 후 제 1차 항체로 처리한 후(Table 1) LSAB(labelled streptavidin biotin)법으로 처리하고 난 후 발색제로 Diaminobenzidine을 이용하였다. 조직표본을 발삼으로 봉입한 다음 Mayer's Hematoxylin으로 대조염색을 시행하여 광학현미경으로 200배하에서 관찰 하였다(Table 2).

3. Western Blot 분석법을 이용한 막기질 성분의 추출.

① Glycosaminoglycan의 동정 : 조직을 95% 수용성 에탄올에 넣은 후, acetone으로 건조하고 조직을 분쇄하였다. Protein-glycosaminoglycan linkage의 결합을 분리하기 위하여 건조분말 조직을 0.3N NaOH 용액에 넣고 4°C에서 하룻동안 유지하였다. 혼합물을 4N HCl 와 1M Tris-HCl (pH 8.0)을 이용하여 pH가 8.0이 되도록 하고, Pronase-P(5mg/g 건조조직)를 넣고 toluene을 첨가한 후, 40°C에서 20시간 동안 부화시킨 후, 혼합물을 10,000 g로 15분간 원심 분리하여 상층액을 모으고, 상층부의 glycosaminoglycan을 1% potassium acetate를 포함하는 95% 수용성 에탄올에 침전시켰다. 80% 수용성 에탄올로 씻고 acetone으로 건조시킨 후, 조직 0.1g을 1ml 증류수에 용해하였다.

② Glycosaminoglycan의 전기영동.

Glycosaminoglycan의 전기영동은 5cm의 cellulose acetate 흡착지에 0.2M calcium acetate buffer를 이용하여 1mA/cm 으로 3시간동안 전극을 걸고, 2 μ l를 흡착지에 점적한 후, 흡착지를 Alcian blue로 염색하고 densitometer로 관찰하였다.

4. 투과전자현미경(TEM)을 이용한 암종 세포의 관찰.

암종 조직을 1mm³의 크기로 잘라 2.5% glutaraldehyde에 넣은 후 고정액은 acetate veronal를 사용하여 pH 7.2로 완충시키고 1% osmium tetroxide를 사용하여 30-60분 후 고정한다. 고정액을 증류수로 씻어낸 후 알코올로 탈수시키고, n-butyl methacrylate에 침윤시킨 후, 젤라틴 캡슐에 포매하고 60°C에서 중합하고 촉매제는 1% benzoyl peroxide를 사용하였다. 0.2 mm³ 정도 되는 블록에서 초박절편을 제작하고 탄소격자상에 올려놓고 Uranyl acetate와 lead citrate로 염색한 후 투과전자현미경(JEOL JEA CX II, JAPAN)으로 관찰하였다.

III. 연구 결과

1. H & E 소견

전체적으로 암종세포의 실질조직은 인접 결체조직으로 침투한 다양한 형태의 종양 세포에 의하여 구성되었고 뚜렷한 위낭을 만들며, 가끔 도관을 형성하는 곳도 보였

다. 이러한 종양세포들은 상피도(epithelial island)나 상피엽(epithelial sheet)를 이루며 내부에는 많은 낭종성 변성을 이루며 전반적으로 벌집모양이나 사상형 모양을 이루고 있었다(Fig. 1).

2. 면역조직화학적 염색 결과

1) Chondroitin sulfate 염색 소견

Chondroitin sulfate 는 사상형 및 도관형 암종세포 부위에서 뚜렷한 양성반응을 보였고 위낭 내쪽의 세포벽에서도 관찰되었다. 또 Chondroitin sulfate는 종양세포 주위의 간질조직에서도 뚜렷한 양성반응을 보였으며, 시상형 암종부위의 위낭 내부에서도 양성반응을 나타내었다 (Fig. 2).

2) Dermatan sulfate 염색소견

간질조직에 인접한 종양세포에 양성반응을 보였으며, 도관형 암종세포에서는 미약한 양성반응을 보였다. 주위의 간질조직에서는 사상형 및 도관형 암종세포 부위 모두에서 음성반응을 나타내었다.(Fig. 3, 4)

3) Keratan sulfate 염색 소견

기저형 암종세포에서 간질조직부위에서 미약하나마 부분적으로 양성반응이 보였으나(Fig. 5, 6), 대부분의 시상형, 도관형 암종세포의 거의 모든 조직에서 음성반응을 나타내었다.

4) Heparan sulfate 염색소견

시상형, 도관형의 종양세포의 기저막에서는 강한 양성반응을 나타내었고(Fig 7, 8), 간질조직에서도 양성 반응이 나타났다. 뿐만 아니라, 침윤성을 보이는 말초신경조직 근처에서는 강한 양성반응을 나타내었다(Fig. 9). 기저형 암종세포에서는 불규칙하게 산재된 양성반응을 보이는 세포들을 관찰할 수 있었다(Fig. 10).

3. Western blot 분석을 이용한 glycosaminoglycan의 동정

Western Blot 분석법을 이용한 막기질 성분을 추출한 후, 전기영동을 시행한 결과, chondroitin sulfate와 heparan sulfate에서 강한 뚜렷한 밴드를 형성하는 것으로 보

아 이 암종의 발생 및 종양침습에 크게 관여하는 것으로 사료되었다(Fig 11).

4. 투과전자현미경(TEM)을 이용한 암종 세포의 관찰.

위낭을 형성하는 상피세포는 미세융모와 잘 발달된 rER와 골지체를 보였고, 그 가장자리에 근상피세포가 여러 겹으로 둥글게 둘러싸고 있었다. 근상피세포의 세포질에는 근세사가 풍부하고 세포사이가 확장되어 있었다(Fig. 12, 13).

IV. 총괄 및 고찰

인체의 결합조직은 많은 세포간 물질과 다양한 종류의 세포로 구성된 조직으로서, 신체의 거의 모든 장기와 조직을 지지해 주고 결합해 주는 역할을 한다. 결합조직의 세포간 물질을 세포외기질이라고도 하며, 형태학적으로는 섬유형태의 결합조직 섬유와 정해진 형태가 없는 무정형의 기질으로 구성되어 있다. 이 기질은 반응액성 겔의 특징을 갖는 무정형의 투명한 물질에서 유래된 이름이다. 조직액은 기질과 체계적으로 유지되어 있어 지지구조들 사이에서 분자들의 이동과 맥혈관계의 대사산물의 교환을 위한 매체로 작용하게 된다. 기질은 여러 종류의 길고, 선형의 분자 가지 않는 긴 다당류 사슬의 혼합형태로 되어 있으며, 각각은 이당류 구조가 반복된 구조이다³⁰⁻³⁷. 이당류 구조의 구성은 일반적으로 우론산(uronic acid)과 아미노당으로 구성되어 있으며, 이 중 아미노당은 현재 glycosaminoglycan이라는 불리워지며, 이전에는 뮤코다당(mucopolysaccharide)로 명명되기도 하였다^{38,39}. 이 glycosaminoglycan은 이당류 구조에 위치한 hydroxyl, carboxyl, sulphate 기의 존재로 인하여 산성의 성질을 갖는다. 하이알루론산은 소성결체조직에서 주로 나타나는 glycosaminoglycan이며, chondroitin-4-sulfate, chondroitin-6-sulfate, dermatan sulfate, heparan sulfate, 그리고 keratan sulfate 등의 glycosaminoglycan은 하이알루론산과는 달리, 다양한 단백질 분자와 공유결합이 되어있어 이른바 proteoglycan을 형성하게 된다. 이러한 proteoglycan은 90-95%가 탄수화물로 구성되는 거대한 분자량을 갖게 된다. glycosaminoglycan은 특정 지지구조의 투과성을 결정하고 세포의 기저막의 구조에 중요한 역할을 하게 된다. 이러한 glycosaminoglycan은 콜라겐처럼 분비되기 전에 변화 과정을 거친다. 먼저 단당류나 이당류 구조의 단계적인 첨가로 다당류가 형성된 후 골지체에서 황산화와 에피

며화 반응에 의해 변화된다^{36, 37)}. 마지막으로 glycosaminoglycan이 세포를 떠나기 전에, proteoglycan 분자를 형성하기 위해 core 단백질의 serine 잔기에 적합한 glycosaminoglycan이 공유 결합한다⁴⁰⁾.

기저막은 세포외간질 단백질들이 판상형태의 배열을 이루고 있는 구조물로서 지지 구조와 실질세포 사이에 위치한다. 기저막은 교원섬유, 당단백 및 단백질당으로 이루어져 있으며 세포의 분화, 형성 및 증식에 관여한다고 알려져 있다⁶⁻⁸⁾.

선양낭성암종은 조직학적으로 각각의 암종 세포군내에서 수많은 위낭 공간을 형성하여 사상체 형태를 가지는 것이 특징적이다. 위낭은 근상피세포 형태의 암종 세포에 둘러싸인 모양을 하고 있고, 기저막 성분을 포함하는 세포외기질로 채워져 있다^{19-23, 41)}. 위낭 내부에는 거의 세포성분은 없으나 암종 세포에서 분비된 세포외기질 성분들로 구성되어 있다²⁴⁻²⁷⁾.

세포간 간질공간과 위낭 내부의 풍부한 기저막 존재는 기저막이 풍부한 기질이 선양낭성암종의 증식에 필수적이라는 것을 증명하고 있다. 또한 말초신경조직이나 혈관 및 근육으로의 빈번한 침습이 이 종양세포가 기저막과의 유관함을 가진다는 것을 증명하여준다²⁶⁾. 또한 선양낭성암종 세포가 기저막을 포함하는 기질에서의 부착, 침입, 그리고 빠른 성장을 하면서 이 암종 세포에서 세포외기질 성분을 합성하고 또한 세포외기질로 분비하여 세포외에 저장시킴으로써, 그 성분들을 변화시킨다^{6-8, 28, 29)}.

proteoglycan에 대한 많은 면역조직화학적 동정법은 특정 단클론항체검사와 효소 면역검사를 시행된 이후로 proteoglycan의 조직 분포에 대한 연구가 활발히 이루어졌다. 타액선 종양인 다형성 선종에 대한 초기의 proteoglycan 연구에 의하면, 근상피세포에서 강한 염색반응을 나타내어 특징적인 소견이 관찰되었다⁴²⁾. 최근의 선양낭성암종에서의 면역조직화학적 검사는 각기 다른 조직학적 형태를 갖는 선양낭성암종에서의 proteoglycan의 위치를 밝히는 데 그 초점이 맞추어졌다. 선양낭성암종의 proteoglycan에 대한 면역조직화학적, 생화학적 연구에서 위낭의 내부는 일반적으로 다층구조의 기저막에 의해 둘러싸여 있으며, 위낭과 간질조직의 콜라겐 섬유들은 무정형, 또는 섬유형 물질을 함유하고 있다고 하였으나, 그 구조에 대하여서는 잘 알지 못하였다⁴³⁻⁴⁷⁾. 최근의 연구에 의하면, 여러 가지의 기저막 성분이 위낭 공간 내에 존재하고, 그 분포가 위낭 경계부에만 제한되지 않는다고 하였다. 이러한 연구의 결과는 기저막 구조에 결합하지 않는 성분을 위낭 내부에 가지고 있다는

사실을 전자현미경적 연구에서 밝혀짐으로써 가능하게 되었다. 선양낭성암종의 기저막 성분은 주위의 근상피세포로 이루어진 암종 세포에서부터 생합성된다^{23, 27, 43, 48, 49}. 기저막 단백질의 존재는 간질 조직의 다른 부위에서도 나타나며, 미세 구조적으로, 초자체 간질은 부분적으로는 무정형, 또는 섬유성 물질로 채워져 있으며, 이는 기저막 물질이 축적된 결과이다⁴⁷. 반면에 성근 형태의 섬유성 간질은 단지 heparan sulfate proteoglycan 만을 함유하고 있다. 최근의 연구에서 Okada 등은 큰 분자량을 가지고 heparan sulfate 쇄를 가진 저밀도 proteoglycan이 면역조직화학적 으로 태생기 간엽조직과 기저막에 산재된 형태로 분포하고 있음을 보고하였다⁵⁰. Cheng 등은 선양낭성암종의 기저막에 대한 면역조직화학적 연구에서, 암종 세포는 strand 형태로 성장함으로써 세포들이 기저막과 접촉할 수 있게 되며, 이러한 strand는 다양한 방향으로 성장하면서 서로 서로 접촉하게 되어 성장하면서 합입되거나 원형으로 둘러싸이게 되어 세포의 기질이 암종 세포에 갇힌 형태를 이루어 위 낭이 형성되고 암종 세포에서 막기질 성분이 분비되고 침착되며, 특이한 형태의 기질은 위낭의 반대 형태로 간주된다고 발표하였다²⁶. 실제로 선양낭성암종의 대부분의 조직학적 형태의 종양세포들은 합입된 간질과의 직접적인 접촉을 하고 있으며, 충실소형의 선양낭성암종에서도 암종세포는 분산된 기저막 기질과 접촉하고 있다. 이 충실소형 선양낭성암종과 관련된 응고 피사는 기저막을 포함하는 간질과의 접촉을 상실할 경우에 나타난다²⁶. 이러한 사실들은 기저막 뿐 아니라, 기저막 성분들의 일부들이 선양낭성암종의 성장과 분화에 깊은 관련이 있음을 나타낸다. 이와 같은 사실은 암종세포가 기저막이 풍부한 조직들, 즉 말초신경조직, 혈관벽, 골격근조직으로의 빈번한 침습이 일어날 수 있음을 나타내는 다른 연구 결과와 유사하다⁵¹⁻⁵³. 또한 이 종양의 신경 침윤성의 친화력은 신경주위의 풍부한 임파조직을 통하여 침윤한다는 사실이 일반적으로 알려져 왔다^{54, 55}. 이 암종의 기저막 단백질 성분의 생성에 관해, 최근 Barsky 등은 누드 마우스에 이종 이식된 선양낭성암종의 ELISA법 분석과 폴리아크릴아마이드 겔 전기영동 분석을 이용한 연구에서 laminin과 제4형 collagen의 많은 양의 기저막 단백질의 생성을 보고하였으며 이는 인체의 기저막 단백질의 주요한 공여부라고 발표하였다⁵⁶. 인체의 타액선에 관한 선양낭성암종의 세포주의 연구에서는, 배양된 암종 세포주에 있어 세포간기질과 세포 표면에 제 4형 collagen, laminin, fibronectin, 그리고 chondroitin sulfate의 존재를 밝혀 내었다^{8, 57}. 특정 단클론 항체검사법과 효소전처리법을 이용한 proteoglycan의 동정 및 분석

이 개발된 이후로 각종 조직과 장기에서의 proteoglycan에 대한 분석이 가능하게 되어⁵⁸⁾, Sibutani씨의 연구에 의하면 양성 타액선 종양인 다형성 선종에서의 proteoglycan 면역 염색 결과에서 변형된 근상피세포의 분포와 변형 연골화(chondroid) 세포의 출현을 보고하였다⁴²⁾.

현재의 타액선 종양인 선양낭성암종에서의 연구들은, 면역화학적 검사법을 통한 proteoglycan의 위치를 밝혀냄으로써, 선양낭성암종의 각각 다른 조직학적 형태에 있어서의 proteoglycan의 염색 형태의 비교연구가 활발하게 진행되고 있다. 타액선 종양에 대한 proteoglycan에 대한 조직화학적, 생화학적 연구는 Takeuchi 등과^{18, 59)} Toida 등의 연구¹⁹⁾에 의해서 많은 발전이 있어 왔다. 타액선 종양의 존재하는 탄성섬유들은 특수한 염색방법에 의해서 발견되었으며⁶⁰⁾, 이 섬유들은 변형된 근상피 세포들로부터 생성되었음을 밝혀내었다⁶¹⁾. 타액선 종양의 다형성 선종에서는, 초자체 조직과 점액성 조직은 가끔 연골성 변환을 한다⁶²⁻⁶⁵⁾. 그리고 연골성 조직은 많은 양의 keratan sulfate proteoglycan을 함유하지만 chondroitin sulfate, dermatan sulfate, heparan sulfate의 proteoglycan은 소량이 분포한다고 하였다. 이전의 연구에 의하면 타액선 종양의 다형성 선종에서 proteoglycan의 합성을 하는 세포들은 변형된 근상피세포와 관련이 있음을 보고하였다^{62, 63)}. 본 연구의 선양낭성암종에서는 근상피세포에서 유래된 세포들이 기저양 형태로 존재하고 이 변형된 근상피세포는 다형성선종의 변형성 근상피세포와 마찬가지로 다양한 면역조직화학적 염색의 소견을 나타내었다⁴²⁾. 그러나 다형성 선종과는 달리, 선양낭성암종에서는 연골화 변형(chondroid change)은 보이지 않았고, 일반적으로 연골 구조에 나타나는 proteoglycan인 keratin sulfate의 면역조직화학적 검사에서도 발현이 거의 일어나지 않았다^{14-16, 66)}. 도관형의 선양낭성암종에서는 근상피세포에서 유래된 암종 세포 또한 proteoglycan 면역 염색에 양성반응이 나타났으나, 사상체형 선양낭성암종 세포에서는 proteoglycan 들의 염색반응에서 음성반응으로 나타났다. 이러한 결과들의 암종세포들은 아마도 개재관(intercalated duct)에서 유래된 세포임을 알수 있으며, 따라서 이 경우에는 proteoglycan을 함유하지 않는 것을 의미한다⁶⁶⁾. 연골 기질과 마찬가지로 결체조직이나 혈관의 평활근 세포와 혈관내피세포는 모두 chondroitin sulfate, dermatan sulfate, heparan sulfate의 proteoglycan의 면역염색반응에 모두 양성반응을 나타낸다. 이 연구의 선양낭성암종의 기저막에서 모두 이에 대한 양성 반응을 나타내었으며, 이러한 기저막들은 다른 면역염색반응단백인 laminin 과 제

IV형 collagen에서도 양성반응을 나타낸다⁶⁷⁻⁷⁰⁾. 변형된 근상피세포는 다형성 선종에서 특이적 형태로 keratin 면역염색반응에서 양성반응으로 나타나며⁷¹⁻⁷³⁾, vimentin⁷⁴⁾, 그리고 S-100 단백⁷⁵⁻⁷⁹⁾에서도 양성반응을 나타낸다. 최근의 연구에서는 선양낭성암종에서는 이 변형된 근상피세포는 keratin, vimentin에 양성반응을 보이며, 일부에서는 S-100 단백질에서도 양성반응을 나타내는 경우도 있었다. 이 변형된 근상피세포는 정상 타액선의 근상피세포에서 유래되었다고 보고 되었으며, 선양낭성암종에서의 변형성 근상피세포는 상피성 구성성분과 간엽조직성분 모두 포함하기 때문에 이러한 복잡한 근상피세포의 복잡한 성질은 이 세포들로 하여금 다양한 proteoglycan의 생합성과 관련되어지고 있는 것이라 여겨진다.

최근 Nara 등⁸⁰⁾은 52례의 다형성 선종, 선포세포암종, 선양낭성암종, 점액표피양암종, Warthin씨 종양 등의 타액선 종양의 세포외기질의 면역조직화학적 연구를 통한 다양한 proteoglycan의 발현에 관한 연구에서, chondroitin-6-sulfate는 선양낭성암종에서는 주로 위낭 공간에 발현되었으며, keratan sulfate는 선양낭성암종에서는 발현되지 않았다. 본 연구에서는 Chondroitin sulfate는 사상형 및 도관형 암종세포부위에서 뚜렷한 양성반응을 보였고 위낭 내쪽의 세포벽에서 관찰되었다. 또 Chondroitin sulfate는 종양세포 주위조직 간질에서도 뚜렷한 양성반응을 보였으며, 사상형 암종부위의 위낭 내부에서도 양성반응을 나타내었다. keratan sulfate는 기저형 암종세포에서 간질조직부위에서 미약하나마 부분적으로 양성반응이 보였으나 대부분의 사상형, 도관형 암종세포의 거의 모든 조직에서 음성반응을 나타내어 위의 연구와 유사한 결과를 나타내었다. Nara 등의 연구에서⁸⁰⁾ heparan sulfate proteoglycan은 선양낭성암종의 도관공간의 내부에서 나타났는데, 본 연구에서는 사상형, 도관형의 종양세포의 기저막에서는 강한 양성반응을 나타내었고, 간질조직에서도 양성 반응이 나타났다. 뿐만 아니라, 침윤성을 보이는 곳에서는 특히 말초신경조직 근처에서는 강한 양성반응을 나타내었으며, 기저형 암종세포에서는 불규칙하게 산재된 양성반응을 보이는 세포들을 관찰할 수 있었다. 이 연구 결과의 차이는 위의 연구에서는⁸⁰⁾ HepSS-1 항체를 이용한 방법을 이용하여 heparan sulfate proteoglycan 분석을 시행함으로써, 이는 HepSS-1 항체가 주로 세포 표면에 위치한 heparan sulfate proteoglycan 만을 인지하는데 기인한다^{80, 81)}.

Irié 등⁸²⁾은 최근 연구에서 선양낭성암종의 세포주의 배양 후 heparan sulfate proteoglycan의 면역화학적방법을 이용한 전자현미경적 연구에서, 세포질 내에서의

heparan sulfate의 합성과 분해에 관한 현상을 발견하고 이러한 선양낭성암종의 세포내의 과정이 선양낭성암종의 조직학적 특성과 생물학적 양상을 설명한다고 하였다. 이는 Kimura등⁸³⁾의 연구에서의 타액선 선양낭성암종의 기저막 성분 중 heparan sulfate proteoglycan의 역할에서 heparan sulfate proteoglycan은 암종세포주의 증식기에서 생합성되며, 이 proteoglycan을 합성하는 세포는 간질의 위낭형성의 초기 구조를 형성한다고 한 연구결과와 유사하다. 또한 Irie등은⁸⁴⁾ 이러한 세포주 세포내 변화에서의 투과전자현미경을 이용한 암종 세포의 관찰을 통하여, 확장된 말단부를 갖는 미세융모(microvilli)가 많이 존재하며, 핵은 커지고 굴곡을 가지며, 미토콘드리아와 rER, 많은 종류의 소낭 등의 많은 소기관이 발달되어 있었음을 관찰하였다. 또한 Sobue등⁸⁾의 연구에서는 선양낭성암종의 세포주에서 다양한 proteoglycan의 면역화학적 검사에서 chondroitin-6-sulfate proteoglycan과 heparan sulfate proteoglycan이 관찰되었고, 투과전자현미경을 이용한 미세구조 연구에서는 암종 세포가 풍부한 rER과 잘 발달된 골지체를 가지는 것을 관찰하였으며, 세포 표면 부위의 rough plasmic reticulum은 많이 확장되어 있으며, 저전하 밀도의 물질을 함유하고 있는 것을 관찰하였다. 본 연구의 전자현미경 소견 상, 위낭을 형성하는 상피세포는, 미세융모와 잘 발달된 rER와 골지체를 보였고, 그 가장자리에 근상피세포가 여러 겹으로 둥글게 둘러싸고 있었다. 근상피세포의 세포질에는 근세사(myofilament)가 있고 세포사이가 확장되어 있었다.

Kimura등은⁸⁵⁾ 타액선 선양낭성암종의 기저막 성분 중 heparan sulfate proteoglycan의 역할에서 heparan sulfate proteoglycan은 암종 세포주의 증식기에서 생합성되며, 이 proteoglycan을 합성하는 세포는 간질의 위낭 형성의 초기 구조를 형성한다고 하였다. 이와 같은 사실은 본 연구에서의 Western Blot 분석법을 이용한 막기질 성분의 추출 후, 전기영동의 결과, heparan sulfate 에서 강한 뚜렷한 밴드를 형성하는 것으로 보아 이 암종의 발생 및 종양침습에 크게 관여하는 것으로 사료되어 위의 연구의 결과와 부합하였다.

본 연구에서는 타액선 종양인 선양낭성암종에서 암종 세포주를 배양하여 조직학적 형태를 비교하고 변형된 근상피세포를 관찰하고, 면역조직화학적 검사를 통하여 이 암종의 침습성과 암종 세포의 분화와 관련된 종양세포의 기저막과 세포간 물질에 나타나는 proteoglycan의 다양한 발현의 연구를 시행하여 다른 타액선 종양과의 차이점을 발견하였고, 이와 같은 연구 결과가 향후 선양낭성암종의 임상적 치료에 도

움이 되고자 하였다. 그러나 이 암종의 침습성과 관련된 기저막과 기저막 성분의 생성은 이의 연구로는 부족하며 향후 더 많은 생화학적, 분자유전생물학적 연구가 필요하리라 사료된다.

V. 결 론

본 연구에서는 15례의 선양낭성암종을 절취하여 10% 중성포르말린에 고정후 4 μ m 파라핀 절편을 제작하고 염색을 시행하여 광학현미경하에서 조직병리학적 특징을 관찰하고, 면역조직화학적 염색을 시행하여 glycosaminoglycan의 특성을 관찰하고, Western Blot 분석법을 이용한 glycosaminoglycan의 추출과 투과전자현미경을 이용한 암종 세포의 관찰을 시행하여, 선양낭성암종 세포 사이에 존재하는 glycosaminoglycan의 분포, 종양세포의 기저막에서의 발현을 통한 종양세포의 생물학적 양태를 살펴 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 면역조직화학적 검사에서 chondroitin sulfate는 종양세포와 간질 조직에서 양성 반응을 보였고, dermatan sulfate는 도관세포에서 부분적으로 양성 반응을 보였다. 반면, keratan sulfate는 음성반응을 나타내었다.
2. Heparan sulfate는 종양세포 및 기저막에서 강한 양성반응을 보였으며, 특히 말초신경부위로 침윤을 보이는 부위에서 더욱 강한 양성반응을 나타내었다.
3. 투과전자현미경에서는 암종세포의 대부분은 변형된 근상피세포의 소견을 보였으며, 많은 미세돌기와 rER을 보였다.
4. Western blot에서는 heparan sulfate가 가장 뚜렷한 양성반응을 보였다.

이상의 연구를 종합하여 볼 때, 선양낭성암종 세포는 변형성 근상피세포로 구성되며, 암종 세포의 면역조직화학적 검사와 Western blot 검사에서 glycosaminoglycan 중에서 chondroitin sulfate와 heparan sulfate의 막기질 성분이 이 암종의 발생과 침습에 관여하는 것으로 사료되었다.

참고 문헌

1. Batasakis JG, Luna MA, el-Naggar A. : Histopathologic grading of salivary gland neoplasm: adenoid cystic carcinomas. *Ann Oto Rhinol Laryngol.* 1990; 99:1007-9.
2. Brookstone MS, Huvos AG, Spiro RH. : Central adenoid cystic carcinoma of mandible. *J Oral Maxillofacial Sur* 1990;48:1329-33.
3. Nascimento AG, Amaral ALP, Prado LAF, Kligerman J : Adenoid cystic carcinoma of salivary glands: a study of 61 cases with clinicopathologic correlation. *Cancer.* 1986;57:312-319.
4. Perzin KH, Gullane P, Clairmont AC.: Adenoid cystic carcinoma arising in salivary glands: a correlation of histological features and clinical courses. *Cancer.* 1978;42:265-282, .
5. Shibutani T, Iwayama Y, Tsunone M, Ando C, Yamada K, Mori M : Immunohistochemical localization of glycosaminoglycans with the use of monoclonal antibodies in salivary pleomorphic adenomas.
6. Shibata Y, Cheng J, Saku T, Okabe H: Proliferation of adenoid cystic carcinoma cells controlled by extracellular matrix. *Jpn J Oral Biol* 1993;35:169-173.
7. Cheng J, Irié T, Munakata R, Kimura S, Nakamura H, He RG, Liu AR, Saku T: Biosynthesis of basement membrane molecules by salivary adenoid cystic carcinoma cells: an immunofluorescence and confocal microscopic study. *Virchows Arch* 1995;426:577-586.
8. Sobue M, Takeuchi J, Niwa M, Yasui C, Nakagaki S, Nagasaka T, Fukatsu T, Saga S, Nakashima N: Establishment of a cell line producing basement membrane components from an adenoid cystic carcinoma of the human salivary gland. *Virchows Arch[A]* 1989;57:203-208.
9. Chouchman JR, Caterson B, Christner JE, Baker JR: Mapping by monoclonal antibody detection of glycosaminoglycans in connective tissues. *Nature* 1984;307:650-652.

10. Clowes AW, Clowes MM, Wight TN: Localization of proteoglycan sulfate in rat aorta. *Histochemistry* 1984;80:379-384.
11. Lark MW, Mar H, Lara S, Hellström I, Hellström KE, Wright TN: Arterial chondroitin sulfate proteoglycan: Localization with monoclonal antibody. *J Histochem Cytochem* 1998;36:1211-1221.
12. Iozzo RV, Clark CC: Chondroitin sulfate proteoglycan is constituent of the basement membrane in rat embryo parietal yolk sac. *Histochemistry* 1987;88: 23-29.
13. Glant T, Leval G: Localization of antigenic components in proteoglycan aggregate of bovine nasal cartilage. *Histochemistry* 1983;77:217-232.
14. Poole AR, Webber C, Pidoux I, Rosenberg LC: Localization of a presence of an immunologically related species in other tissues. *J Histochem Cytochem* 1986;34:619-625.
15. Ratcliffe A, Fryer PR, Hardingham TE: The distribution of aggregation proteoglycans in articular cartilage. Comparison of quantitative immunoelectron microscopy with radioimmunoassay and biochemical analysis. *J Histochem Cytochem* 1984;32:193-210.
16. Takagi M, Parmley RT, Denys FR: Ultrastructural cytochemistry and immunohistochemistry of proteoglycans associated with epiphyseal cartilage calcification. *J Histochem Cytochem* 1993;31:1089-1100.
17. Vertel BM, Morrel JJ, Barkman LL: Immunofluorescence studies on cartilage matrix synthesis. The synthesis of link protein, chondroitin sulfate proteoglycan monomer and type II collagen. *Exp Cell Res* 1985;158: 423-432.
18. Takeuchi J, Sobue M, Yoshida M, Esaki T, Katoh Y: Pleomorphic adenoma of the salivary gland with special reference to histochemical and electron microscopic studies and biochemical analysis of glycosaminoglycan in vivo and in vitro. *Cancer* 1975;36:1171-1784.
19. Toida M, Takeuchi J, Hara K. : Histochemical studies of intercellular component of salivary gland tumors with special reference to glycosaminoglycan, laminin, and vascular elements. *Virchows Arch[A]*

- 1984;403:15-26.
20. Toida M, Takeuchi J, Hara K. : Histochemical studies on pseudocysts in adenoid cystic carcinoma of the human salivary gland. *Histochem J* 1985;17:913-924.
 21. Caseliz J, Schulzei G : Adenoid cystic carcinoma of the salivary glands: an immunohistochemical study. *J Oral Pathol* 1986;5:308-318.
 22. Azumi N, Battiforini H: The cellular composition of adenoid cystic carcinoma. An immunohistochemical study. *Cancer* 1987;60:1589-1598.
 23. Saku T, Okabe H, Yagi Y, Sato E, Tsuda N: A comparative study on the immunolocalization of keratin and myosin in salivary gland tumors. *Acta Pathol Jpn* 1984;4:1031-1040.
 24. Busttil A: Adenoid cystic carcinoma of minor salivary glands. *J Laryngol Otol* 1977;91:41-53.
 25. Mochomovitz LE, Kahn LB : Adenoid cystic carcinoma of the salivary gland and its histologic variants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1977;44:394-404.
 26. Cheng J, Saku T, Okabe H, Furthmayer H: Basement membranes in adenoid cystic carcinoma: an immunohistochemical study. *Cancer* 1992;69:2631-2640.
 27. Hübner G, Kleinsasser O, Klein H: Zur Feinstruktur und Genese der Cylindrome der Speicheldrüsen. *Virchows Arch[A]* 1969;347: 296-315.
 28. Shirasuna K, Watatani K, Furusawa H, Saka M, Morioka S, Yoshioka H, Matsuya T: Biologic characterization of pseudocyst-forming cell lines from human adenoid cystic carcinomas of minor salivary gland origin. *Cancer Res* 1990;50:4139-4145.
 29. Shirasuna K, Saka M, Hayashido Y, Yoshioka H, Sugiura T, Matsuya T: Extracellular matrix production and degradation by adenoid cystic carcinoma cells; participation of plasminogen activator and its inhibitor in matrix degradation. *Cancer Res* 1993;53:147-152.
 30. Gahmberg CG, Tolvanen M: Why mammalian cell surface proteins are glycoproteins. *Trends Biochem Sci* 1996;21:308-311.

31. Kobata A: Structures and functions of the sugar chains of glycoproteins. *Eur J Biochem* 1992;209:483-501.
32. Opdenakker G, Rudd P, Ponting C, Dwek R: Concepts and principles of glycobiology. *FASEB J* 1993;7:1330-1337.
33. Varki A: Biological roles of oligosaccharides; all of the theories are correct. *Glycobiology* 1993;3:97-130.
34. Weiss WI, Drickamer K: Structural basis of carbohydrate-protein interactions. *Biochem* 1996;65:441-473.
35. Caplin MF, Kennedy JF: *Carbohydrate Analysis: A practical Approach*, 2nd eds IRL press, Oxford. 1994.
36. Dwek RA, Edge CJ, Harvey DJ, Wormald MR: Analysis of glycoprotein-associated oligosaccharides. *Annu Rev Biochem* 1993;62:65-100.
37. McCleary BV, Matheson NK: Enzymic analysis of polysaccharide structure. *Adv Carbohydr Chem Biochem* 1986;44: 147-276.
38. Carney SL, Mur H: The structure and function of cartilage proteoglycans. *Physiol Rev* 1988;68:858-910.
39. Izzo RV: Matrix proteoglycans; form molecular design to cellular function. *Ann Rev Biochem* 1998;67:609-652.
40. Jackson RL, Busch SJ, Cardin AD: Glycosaminoglycans; molecular properties, protein interactions, and role in physiological processes. *Physiol Rev* 1991;71:481-539.
41. Azumi N, Battiform H: The cellular composition of adenoid cystic carcinoma. An immunohistochemical study. *Cancer* 1987;60:1589-1598.
42. Sibutani T, Iwayama Y, Tsunone M, Ando C, Yamada K, Mori M: Immunohistochemical localization of glycosaminoglycans with the use of monoclonal antibodies in salivary pleomorphic adenomas. *Histochemical J*(submitted)
43. Hoshino M, Tamamoto I: Ultrastructure of adenoid cystic carcinoma. *Cancer* 1970;25:186-198.
44. Tandler B: Ultrastructure of adenoid cystic carcinoma of salivary gland

- origin. *Lab Invest* 1971;24:504-512.
45. Chisholm DM, Waterhouse JP, Kraucunas E, Sciubba JJ: A qualitative and quantitative electron microscopic study of the structure of the adenoid cystic carcinoma of the human minor salivary glands. *J Oral Pathol* 1975;4:103-119.
 46. Chen SY: Adenoid cystic carcinoma of minor salivary gland. Histochemical and electron microscopic studies of cystlike spaces. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1976;43:606-619.
 47. Osborn DA: Morphology and the natural history of cribriform adenocarcinoma(adenoid cystic carcinoma). *J Clin Pathol* 1977;30:195-205.
 48. Thackray AC, Lucas RB: Tumor of the major salivary glands. Washington, DC: The Armed Forces Institute of Pathology, 1974;pp91-99.
 49. Nochomovitz LE, Kahn LB : Adenoid cystic carcinoma of the salivary gland and its histologic variants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1977;44:394-404.
 50. Okada T, Kado M, Suzuki S, Kimada K.: Synthesis of basement membrane type low density heparan sulfate proteoglycan by mesenchymal cells. *Proceedings of 41st Annual Meeting of the Japanese Society for Cell Biology* 1988;89.
 51. Forte FW Jr, Frazell EL: Tumor of major salivary glands. *Cancer* 1953;6:1065-1133.
 52. Leafstedt SW, Gaeta JF, Sako K, Marchetta FC, Shedd DP: Adenoid cystic carcinoma of the major salivary glands. *Am J Surg* 1971;122:756-762.
 53. Baba K, Washizu K, Ebihara T, Ono I, Shimsato Y, Takeda C: Salivary gland tumors: Histopathology and clinical course. *Jpn J Cancer Clin* 1973;19:893-911.
 54. Bhaskar SN: Synopsis of Oral Pathology, ed. 5. St. Louis: CV Mosby, 1977;pp578.
 55. Anderson WAD, Kissane JM : Pathology, ed. 7. St. Louis: CV Mosby, 1977;pp1276.
 56. Barsky SH, Layfield L, Varki N, Bhuta S: Two human tumors with high basement membrane-producing potentials. *Cancer* 1988;61: 1798-1806.

57. He RG, Zanf XS, Zhou XJ, et al: The establishment of cell lines of a adenoid cystic carcinoma of human salivary glands(ACC-2,ACC-3) and a study of morphology: West Clin J Stomatol 1988;6:1-4.
58. Couchman JR, Caterson B, Christner JE, Baker JR: Mapping by monoclonal antibody detection of glycosaminoglycans in connective tissues. Nature 1984;307: 650-652.
59. Takeuchi J, Sobue M, Sato E, Shamoto M, Miura K, Nakagaki S: Variation in glycosaminoglycan components of breast tumors. Cancer Res 1976;36: 2133-2139.
60. El-Bardaie AM, Nikai H: Myoepithelial cell staining by levanol fast cyanine 5RN applied to epoxy-embedded semithin sections. Acta Histochem Cytochem 1986;19: 473-479.
61. Nikai H, El-Bardaie AM, Takata T, Ogawa I, Ijuhin N: Histologic evaluation of myoepithelial participation in salivary gland tumors. Int J Oral Maxillofacial Surg 1986;15: 597-605.
62. Dardick I, Von Nostrand AWP, Phillips MJ: Histogenesis of salivary gland pleomorphic adenoma(mixed tumor) with an evaluation of the role of the myoepithelial cells. Hum Pathol 1982;13: 62-75.
63. Dardick I, Von Nostrand AWp, Jeans MTD, Rippstein P, Edward V: Pleomorphic adenoma I; Ultrastructural organization of "stromal" regions. Hum Pathol 1983;14:798-809.
64. Doyle LE, Lynn JA, Tanopio IT, Grass G: Ultrastructure of the chondroid regions of benign mixed tumor of salivary gland. Cancer 1968;22:225-233.
65. Mills SE, Coper PH: An ultrastructural study of cartilaginous zones and surrounding epithelium in mixed tumors of salivary glands and skin. Lab Invest 1981;44:6-12.
66. Grant T, Leval G: Localization of antigenic components in proteoglycan aggregate of bovine nasal cartilage. Histochemistry 1983;77:217-232.
67. Iozzo RV, Clark CC: Chondroitin sulfate proteoglycan is a constituent of the basement membrane in the rat embryo parietal yolk sac. Histochemistry

- 1987;88:23-29.
68. Iozzo R: Biology of disease. Proteoglycans; structure, function, and role in neoplasia. *Lab Invest* 1985;53:373-396.
 69. D'Ardenne AJ, Burns J, Sykers BC, Bennett MK: Fibronectin and type II collagen in epithelial neoplasms of gastrointestinal tract and salivary gland. *J Clin Pathol* 1983;36:756-763.
 70. Caselitz J, Schmitt P, Seifert G, Wustrow J, Schuppan D: Basal membrane associated substances in human salivary gland and salivary gland tumors. *Pathol* 1983;36:756-763.
 71. Dardick I, Rippstein P, Skimming L, Boivin M, Parks WR, Dairkee SH: Immunohistochemistry and ultrastructure of myoepithelium and modified myoepithelium of ducts of human major salivary glands; histogenic implications for salivary gland tumors. *Oral Surg* 1987;64:703-715.
 72. Mori M, Tsukitani T, Ninomiya T, Okada Y: Various expression of modified myoepithelial cells in salivary pleomorphic adenomas; Immunohistochemical studies. *Path Res Pract* 1987;182:632-636.
 73. Palmer RM: The identification of myoepithelial cells in human salivary glands. A review and comparison of light microscopical method. *J Oral Pathol* 1986;15:221-229.
 74. Shinohara H, Yamada K, Tanaka T, Meenaghan MA, Takai Y, Mori M: Coexpression of keratin and vimentin in salivary pleomorphic adenomas. *J Oral Path Med* 1989;18:133-139.
 75. Mori M, Tsukitani T, Ninomiya T, Okada Y: Various expression of modified myoepithelial cells in salivary pleomorphic adenomas; Immunohistochemical studies. *Path Res Pract* 1987;182:632-636.
 76. Kahn HJ, Baumal R, Marks A, Dardick I, Van Nostrand AWP: Myoepithelial cells in salivary gland tumors. An immunohistochemical study. *Arch Pathol Lab Med* 1985;109:190-195.
 77. Mori M, Murase N, Hosaka M, Orito T: Immunohistochemical expression of S-100 protein in reactive and neoplastic myoepithelial cells of variant

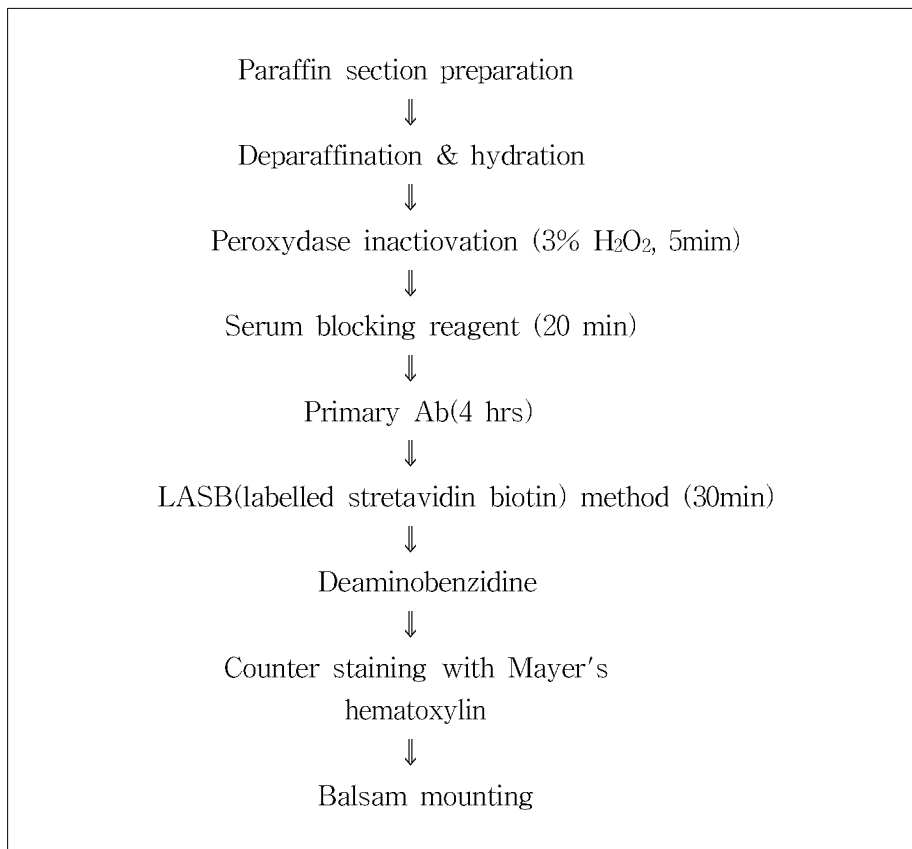
- salivary pleomorphic adenoma. *Acta Histochem Cytochem* 1986;19:231-240.
78. Naito R, Tsukitani K, Ninomiya T, Okada Y, Tanaka T, Mori M: Immunohistochemical localization of S-100 protein subunit α and β in pleomorphic adenoma of the salivary gland. *Virchows Arch(Cell Pathol)* 1989;57:63-75.
 79. Nakazato Y, Ishizaki J, Takahashi K, Yamaguchi H, Kamei T, Mori T: Localization of S-100 protein and glial fibrillary acidic protein-related antigen in pleomorphic adenoma of the salivary glands. *Lab Invest* 1982;46:621-626.
 80. Nara Y, Takeuchi J, Yoshida K, Fukatsu T, Nagasaka T, Kawaguchi T, Neng N, Kikuchi H, Nakashima N: Immunohistochemical characterisation of extracellular matrix components of salivary gland tumors. *Br J Cancer* 1991;64:307-314.
 81. Kure S, Yoshie O: A syngeneic monoclonal antibody to murine meth-A sarcoma(HepSS-1) recognizes heparan sulfate glycosaminoglycan (HS-GAG) ; cell density alternation in cell surface HS-GAG defined by HepSS-1. *J Immunol* 1986;137:3900-3995.
 82. Irié T, Cheng J, Kimura S, Munakata R, Taira S, Saku T: Intracellular transport of basement membrane-type heparan sulfate proteoglycan in adenoid cystic carcinoma cells of salivary gland origin: an immunoelectron microscopic study. *Virchows Arch* 1998;433:41-48.
 83. Kimura S, Cheng J, Ida H, Hao N, Fujimori Y, Saku T: Perlecan(heparan sulfate proteoglycan)gene expression reflected in the characteristic histological architecture of salivary adenoid cystic carcinoma. *Virchows Arch* 2000;437:122-128.
 84. Irié T, Cheng J, Kimura S, Munakata R, Taira S, Saku T: Intracellular transport of basement membrane-type heparan sulfate proteoglycan in adenoid cystic carcinoma cells of salivary gland origin: an immunoelectron microscopic study. *Virchows Arch* 1998;433:41-48.
 85. Kimura S, Cheng J, Ida H, Hao N, Fujimori Y, Saku T: Perlecan(heparan

sulfate proteoglycan)gene expression reflected in the characteristic histological architecture of salivary adenoid cystic carcinoma. Virchows Arch 2000;437:122-128.

Table 1. Specification of primary antibody used in this study

	Host/Subclass	Dilution	Manufacture
CS	Mouse/IgM	1:100	Chemicom
KS	Mouse/IgG2b	1:100	Chemicom
DS	Mouse/IgG2a	1:100	Chemicom
HS	Mouse IgG1	1:100	Chemicom

Table 2. Procedure for immunohistochemical staining



Abbreviation

ACC : Adenoid Cystic Carcinoma

CS : Chondroitin Sulfate

DS : Dermatan Sulfate

KS : Keratan Sulfate

HS : Heparan Sulfate

rER : rough Endoplasmic Reticulum

TEM : Transmission Electomicroscopy

GAGS: Glycosaminoglycans

MF : Myofilament

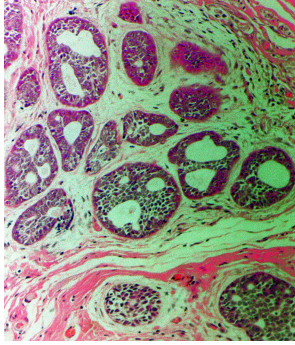


Fig 1. Adenoid cystic carcinoma showed cribriform pattern with dark and small basophilic tumor cells(x100, H&E)

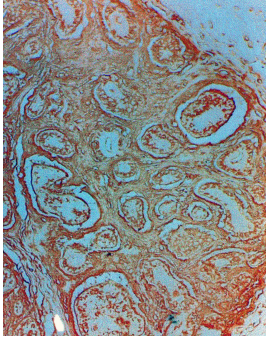


Fig 2. Strong CS positive distribution around cellular matrix and tumor nest(x100, CS)

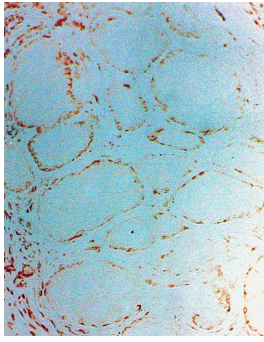


Fig 3. Negative DS staining in cribriform tumor nests(x100, DS)

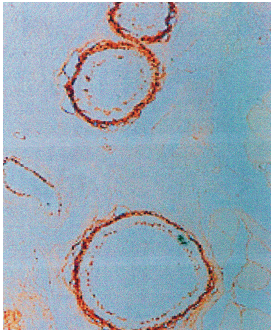


Fig 4. Negative DS staining in tumor nests(x100, DS)

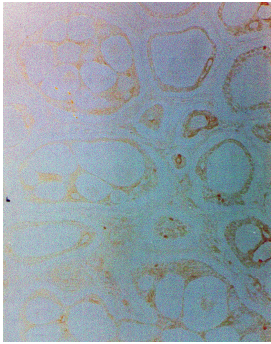


Fig 5. Slight KS positive staining of interstitial area in tumor nest
(x100, KS)

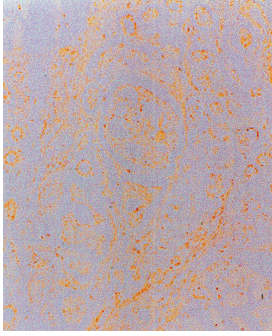


Fig 6. Scattered KS positive cells in tumor nest and tubular form
(x100,KS)

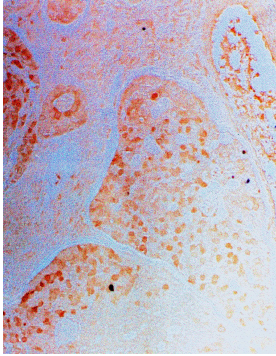


Fig 7. Strong positive HS in basement membrane of tumor cells
composed tubular form(x100, HS)

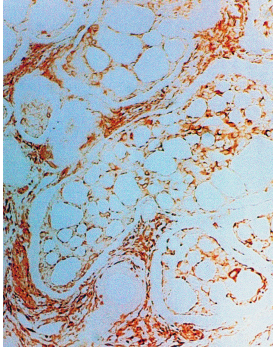


Fig 8. Strong positive HS in basement membrane of tumor cells composed pseudocyst(x 100, HS)

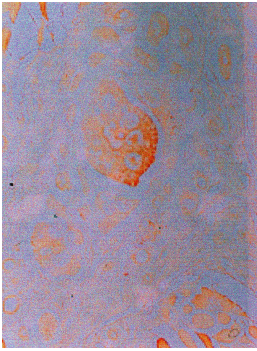


Fig 9. Focal HS positive tumor cells in tumor cells and strong HS positive intracellular matrix adjacent to peripheral nerve (x100,HS)

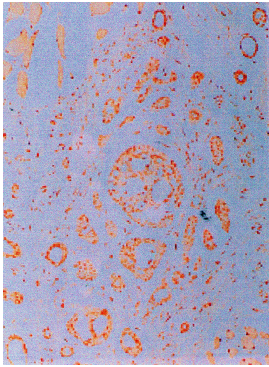


Fig 10. Focal HS positive tumor cells in tumor cells and strong HS positive intracellular matrix adjacent to peripheral nerve (x100,HS)

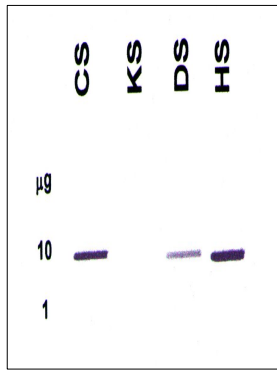


Fig 11. Western blot of GAGs in ACC: Heparan sulfate, Chondroitin sulfate, Keratan sulfate and Dermatan sulfate in descending order.

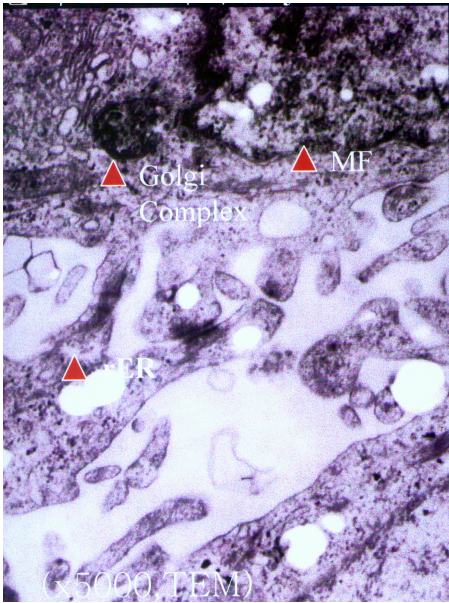


Fig 12. Round shaped rER cisternae and Golgi vesicles
(x5000,TEM)

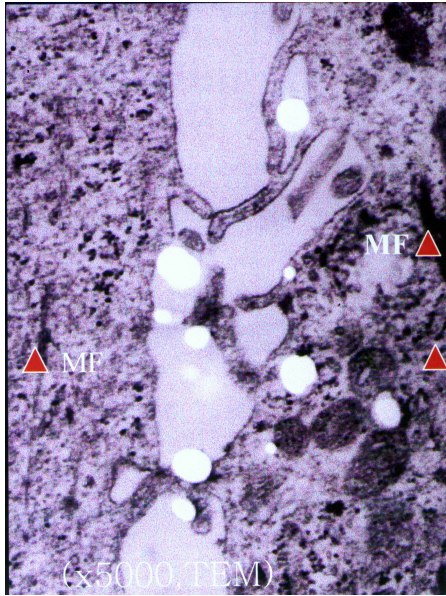


Fig 13. Ovoid shaped cells with plentiful microvilli and myofilaments
(x5000,TEM)

저자 연락처

김 경 욱

330-716, 충남 천안시 신부동 산 7-1

단국대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Kyung-Wook Kim

Dept. of OMFS, College of Dentistry, Dankook Univ.

san 7-1, Shinbu-dong, Chon-an, Chung-Nam, 330-716, Korea

Tel : 82-41-550-1993 Fax : 82-41-551-8988 E-mail : kkwoms@dku.edu