

The Usefulness of Immunohistochemical Staining for Diagnosis of Thyroid Nodule in Preoperative Ultrasonography-Guided Core Needle Biopsy

Hyun-Jik Lee,¹ Jong-Chul Hong,² Jae-Hoon Lee,² Suk-Hee Hong³ and Heon-Soo Park²

¹Ulsan Hana ORL Hospital, Ulsan; and ²Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery,

³Pathology, Dong-A University College of Medicine, Busan, Korea

갑상샘 결절의 수술 전 진단에서 초음파 유도하 심부 생검 면역 조직화학적 검사의 유용성

이현직¹ · 홍종철² · 이재훈² · 홍숙희³ · 박현수²

울산 하나이비인후과병원,¹ 동아대학교 의과대학 이비인후과학교실,² 병리과학교실³

Background and Objectives The diagnosis of thyroid nodular diseases is critical for clinical management. Because of the histological similarity of follicular patterned thyroid lesions, the differential diagnosis is often difficult to determine, even with permanent sections. For this reason, we assessed the preoperative diagnostic usefulness of immunohistochemical staining for the four potential markers of malignant thyroid nodule, β -galactosidase binding lectin (Galectin-3), Hector Battifora Mesothelial cell (HBME-1), cytokeratin-19 (CK-19) and high molecular weight cytokeratin (HMW-CK) in tissues obtained by ultrasound-guided core needle biopsy.

Subjects and Method The immunohistochemical expression of Galectin-3, HBME-1, CK-19 and HMW-CK were evaluated in 43 preoperative thyroid lesions obtained to assess their potential as markers in the diagnosis and classification of thyroid malignancy. We compared the preoperative expression of the four markers with the results of postoperative permanent pathology.

Results The expression patterns and positive rates of four markers were the variables in 4 thyroid lesions; however, all markers were strong in malignant thyroid nodules, especially in papillary carcinoma. There were no significant differences in the expression rates of the four markers between follicular carcinoma and follicular adenoma. The sensitivity of HBME-1 for thyroid malignancy was the highest (86%) among the four markers, but the sensitivity of combinational expression using two markers, especially Galectin-3 or HBME-1 (95%), HBME-1 or HMW-CK (90%), was higher than that of the expression using one marker for thyroid malignancy.

Conclusion The four markers were reliable markers for papillary carcinoma. In preoperative differential diagnosis of thyroid nodule, we suggest that the combinational expression using two markers is more useful than a single marker expression.

Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg 2010;53:564-70

Key Words Immunohistochemical staining · Thyroid nodule · Ultrasound-guided core needle biopsy.

Received February 16, 2010
Revised July 28, 2010
Accepted August 1, 2010

Address for correspondence
Heon-Soo Park, MD, PhD
Department of Otolaryngology-
Head and Neck Surgery,
Dong-A University
College of Medicine,
1 Dongdaeshin-dong 3-ga, Seo-gu,
Busan 602-715, Korea
Tel +82-51-240-5428
Fax +82-51-253-0712
E-mail hspark1@dau.ac.kr

서 론

갑상샘 결절은 내분비계 질환 중 가장 흔한 질환의 하나로 수술적 치료의 시행과 수술의 범위를 결정함에 있어서

악성과 양성의 구분이 가장 중요하다. 현재 미세침 흡인세포검사법(fine needle aspiration cytology)이나 초음파 유도하 중심 바늘 생검(ultrasound-guided core needle biopsy)을 통해 얻어진 갑상샘 결절의 병리학적 평가가 악성

과 양성을 구분하는 술 전 진단의 한 가지 방법으로 이용되고 있다.^{1,2)} 그러나 Baloch 등³⁾에 따르면 위의 방법은 위 양성률이 16%, 위음성률이 7.5%에 이른다고 보고하였으며, Raber 등⁴⁾은 갑상선 병변에서 미세침 흡인세포검사법을 통한 세포학적 검사에서 비정상적이지 않음(no abnormality), 정상(normal)으로 판정된 경우에서 조직학적 검사 시 각각 16.3%, 15%에서 악성 소견이 보여 미세침 흡인세포 검사법에 의한 세포학적 검사는 확진을 위한 보조적은 역할만 하여야 하다고 주장하였다. 또 이는 소포 암종의 진단은 불가능한 것으로 알려져 있는데, 이는 악성과 양성을 구분하는 중요 병리학적 기준이 혈관과 피막의 침윤 유무이므로 극소량 얻어진 조직이나 세포의 변화소견으로는 판정하기가 어렵기 때문이다.⁵⁾ 또한 갑상샘암은 종류에 따라서 여러 아형이 존재하여 술 후의 조직학적 진단 시에도 어려움이 있는데, 소포 유두 암종(follicular variant of papillary carcinoma)이 대표적인 예이다.^{5,6)} 이러한 이유들로 최근 면역조직화학 검사를 통해 갑상샘 결절의 술 전 진단율을 높이려는 연구들이 시행되고 있다. 면역조직화학 검사는 염색되는 정도에 따라 그 수치를 정량화 할 수 있어 병리학자의 주관적인 소견을 보다 객관화시킬 수 있으며, 따라서 통상적인 H&E 염색을 통한 병리학적 진단이 어려운 경우 갑상샘 결절의 악성과 양성을 감별하는 데 도움을 줄 것으로 기대된다. 여러 연구에서 갑상샘 결절의 절체를 통해 병리조직학적 확진이 이루어진 갑상샘 결절 조직에 면역조직화학 검사를 시행한 결과 여러 가지 표지자들이 갑상샘 악성 결절에서 과발현 되었다는 보고들이 있다. 이러한 표지자들 중 β -galactosil binding lectin(Galectin-3) 및 중 피세포 표지자인 Hector Battifora Mesothelial cell(HB-ME-1)은 다른 표지자들보다 갑상샘 악성 결절에서, 또한 cytokeratin-19(CK-19) 및 high molecular weight cytokeratin(HMW-CK)은 갑상샘 악성 결절들 중 유두 암종에서 특이적으로 과발현 되는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서 갑상샘 결절의 술 전 진단에 Galectin-3, HBME-1, CK-19, HMW-CK을 이용한 면역조직화학 검사를 시행하여 이를 술 후 조직검사와 비교함으로써 갑상샘 결절의 진단에 있어서 면역조직화학 검사의 유용성을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

환자군 및 조직채취

1998년 7월부터 2005년 7월까지 갑상샘 결절을 주소로 내원하여 갑상샘 절제술을 시행 받고 조직학적인 확진을 받은 환자들 가운데, 술 전 초음파 유도하 중심 바늘 생

검을 통해 얻어진 갑상샘 파라핀 포매 조직의 사용이 가능한 43예를 대상으로 하였다. 환자의 연령분포는 29세부터 68세였고, 평균 연령은 47.3세였으며, 성별분포는 남자가 11명, 여자가 32명이었다. 초음파 유도하 심부 생검은 방사선과 전문의에 의해 시행되었다. 술 후 병리조직학적 검사로 확진된 갑상샘 결절은 유두 암종이 14예였으며, 갑상샘 종(adenomatous goiter)이 14예, 소포 샘종(follicular adenoma)이 7예, 소포 암종이 8예 이었다. 이를 질환을 두 군으로 나누어 갑상샘종과 소포 샘종은 양성종양으로 유두 암종과 소포 암종은 악성종양으로 하였다. 모든 술 전 갑상샘 조직에서 Galectin-3, HBME-1, CK-19, HMW-CK에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하였다.

면역조직화학검사

조직은 10% 중성 포르말린에 고정한 후 파라핀에 포매한 조직을 4 μ m 두께로 박절하여 4장의 슬라이드에 붙여서 만든 다음 크실렌(xylene)으로 5분간 3회 탈파라핀을 시행한 후, 순차적으로 낮은 농도의 알코올로 함수시킨 다음 중류수로 수세하였다. 내인성 과산화 효소의 활성을 억제시키기 위해 3%의 과산화 수소를 사용하여 10분간 처리한 후, 항원 활성을 위해 EDTA 완충액(pH 9.0)에 넣어 15분간 마이크로파를 조사하였다. 각각의 1차 항체(Galectin-3, HBME-1, CK-19, HMW-CK)를 30분간 반응시킨 후, Tris 완충액에 10분간 세척하였다. Chemmate-TM DAKO envision kit내에 들어 있는 2차 항체 HRP rabbit/mouse에 30분간 반응시킨 후, Tris 완충액으로 세척한 후, 3,3' diaminobenzidine tetrahydchloride에 5분 정도 발색 정도를 관찰하면서 반응시켰다. Tris 완충액으로 10분간 세척하고, Harris 헤마톡실린으로 1분간 대조염색 시킨 후, 탈수과정을 거쳐 봉입하고 현미경으로 검사하였다. 염색결과 판독은 병리전문의에 의하여 과거의 조직병리학적, 임상적 정보 없이 시행하였으며, 광학현미경 시야에서 종양 세포의 세포질이나 세포막이 갈색으로 염색될 때 양성 반응으로 판독하였다. 종양 세포의 5% 이하에서 양성 반응을 보인 경우 -, 종양 세포의 5~50%에서 양성 반응을 보인 경우 +, 종양 세포의 50% 이상에서 양성 반응을 보인 경우 ++로 판정하였으며, ++를 발현 양성종양으로 최종 판정하였다.

통계학적 분석

양성종양과 악성종양에서 두 그룹 간 각 표지자들의 발현 정도의 차이와 조직학적 요소별 표지자들의 발현정도의 차이를 Fisher's exact test로 비교하였으며, p 값이 0.05

이하인 경우를 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다. 또한 각 표지자와 그들의 조합발현(combinational expression)의 민감도(sensitivity)와 특이도(specificity)를 산출하였다.

결 과

종양별 면역조직화학적 염색 결과

연구대상 43예의 갑상샘 병소의 면역조직화학적 염색에서 염색의 양성 반응을 보이는 세포의 분포는 한 종양에서도 -, +, ++로 다양하게 관찰되었고, 종양에 따른 분류와 표지자의 종류에 따라 발현정도에 차이가 있었다.

Galectin-3를 이용한 면역조직화학검사

유두암종에서는 14예 모두 양성 발현을 보였으나, 소포암종은 8예 중 2예(25%)에서 양성 발현을 보였다. 소포샘종에서는 7예 중 1예(14.3%)에서 양성 발현을 보여 소포암종과 통계학적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다. 14예의 갑상샘종 모두에서는 양성 발현을 보이지 않았다. Galectin-3 발현율은 양성종양보다 악성종양에서 통계학적으로 유의하게 발현율이 높았다($p<0.001$). 소포암종과 소포샘종, 소포암종과 갑상샘종의 비교에서 Galectin-3

발현율은 통계학적으로 의미 있는 차이가 없었다($p=1.00$, $p=0.244$). 유두암종과 갑상샘종의 비교, 유두암종과 소포샘종의 비교, 유두암종과 소포암종의 비교에서는 모두 통계학적으로 유의하게 유두암종에서 Galectin-3 발현율이 높았다($p<0.001$) (Table 1). 표본의 면역조직화학적 염색양상은 유두암종에서는 대부분의 종양세포들이 균질하고 강하게 염색되었다. 소포암종이나 소포샘종에서는 다양한 염색강도를 보였으며, 발현되는 경우에도 미만성 혹은 국소적으로 염색되었다. 갑상샘종에서는 대부분 염색되지 않았으며 염색이 되더라도 아주 국소적인 염색을 보이는 경우가 대부분이었다(Fig. 1).

HBME-1을 이용한 면역조직화학검사

14예의 유두암종 중 13예(92.9%)에서 양성 발현을 보였다. 소포암종은 8예 중 6예(75%)에서 양성 발현을 보였으나, 소포샘종은 7예 중 2예(28.6%)에서 양성 발현을 보였다. 갑상샘종은 14예 중 1예(7.1%)에서 양성 발현을 보였다. HBME-1 발현율은 양성종양보다 악성종양에서 통계학적으로 유의하게 발현율이 높았다($p<0.001$). HBME-1 발현율은 소포암종과 소포샘종의 비교에서 소포암종이 높은 발현율을 보였으나 통계학적으로 의미는 없었으며($p=0.184$), 소포암종과 갑상샘종의 비교에서는 통계학

Table 1. Expression & statistic comparisons of Galectin-3, HBME-1, CK-19, HMW-CK expression in thyroid lesions

	Galectin-3	HBME-1	CK-19	HMW-CK
Benign neoplasm	4.8%	14.3%	4.8%	0%
Malignant neoplasm	72.7% (<0.001)	86.4% (<0.001)	68.1% (<0.001)	59% (<0.001)
Papillary carcinoma	100%	92.9%	100%	92.9%
Follicular adenoma	14.3% (<0.001*)	28.6% (0.002*)	14.3% (<0.001*)	0% (<0.001*)
Adenomatous goiter	0% (<0.001 [†])	7.1% (<0.001 [†])	0% (<0.001 [†])	0% (<0.001 [†])
Follicular carcinoma	25% (<0.001 [‡])	75% (NS [‡])	12.5% (<0.001 [‡])	0% (<0.001 [‡])
Follicular adenoma	14.3% (NS [§])	28.6% (0.184 [§])	14.3% (NS [§])	0% (NS [§])
Adenomatous goiter	0% (<0.001)	7.1% (0.003)	0% (NS)	0% (NS)

*papillary carcinoma vs. follicular adenoma, [†]Papillary carcinoma vs. adenomatous goiter, [‡]Papillary carcinoma vs. follicular carcinoma, [§]Follicular carcinoma vs. follicular adenoma, ^{||}Follicular carcinoma vs. adenomatous goiter. NS: not significant, Galectin-3: β -galactosid binding lectin, HBME-1: Hector Battifora Mesothelial cell, CK-19: cytokeratin-19, HMW-CK: high molecular weight cytokeratin

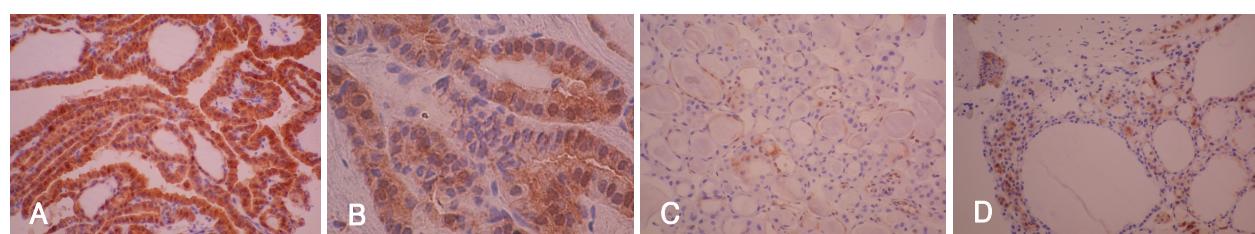


Fig. 1. Expression pattern of Galectin-3 in the thyroid lesions. In papillary carcinoma, the tumor cells show diffuse and strong positive reaction (A). In follicular carcinoma, the tumor cells show focally strong positive reaction (B). In follicular adenoma, immunoreactivity is positive in less than 50% of the tumor cells (C). In adenomatous goiter, the tumor shows focal positive reaction in less than 50% of the tumor cells ($\times 200$)(D). Galectin-3: β -galactosid binding lectin.

적으로 유의하게 소포 암종에서 높은 발현율을 보였다($p=0.003$). 유두 암종과 갑상샘종의 비교, 유두 암종과 소포 샘종의 비교에서는 통계학적으로 유의하게 유두 암종에서 발현율이 높았으나($p<0.002$), 유두 암종과 소포 암종의 비교에서는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다($p=0.121$). 표본의 면역조직화학적 염색양상은 유두 암종에서는 대부분의 종양 세포들이 균질하고 강하게 염색되었다. 소포 암종은 발현될 경우 종양 세포들이 균질하고 강한 염색양상을 보였으나, 발현되지 않을 경우 전혀 염색이 되지 않았다. 소포 샘종의 경우도 2예에서 강한 염색양상을 보였으나, 전혀 염색이 되지 않는 경우가 대부분이었다. 갑상샘종의 경우 대부분이 염색되지 않았으며 염색이 되더라도 아주 국소적인 약한 염색을 보였다(Fig. 2).

CK-19을 이용한 면역조직화학검사

유두 암종 14예 모두 양성 발현을 보였으나, 세포 암종은 8예 중 1예(12.5%)에서 양성 발현을 보였다. 소포 샘종

에서는 7예 중 1예(14.3%)에서 양성 발현을 보여 소포 암종과 통계학적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다. 갑상샘종 14예 모두는 양성 발현을 보이지 않았다. CK-19의 발현율은 통계학적으로 유의하게 양성종양보다 악성종양에서 발현율이 높았다($p<0.001$). 소포 암종과 소포 샘종, 소포 암종과 갑상샘종의 비교에서 CK-19 발현율은 통계학적으로 차이가 없었다. 유두 암종과 갑상샘종의 비교, 유두 암종과 소포 샘종의 비교, 유두 암종과 소포 암종의 비교에서는 모두 통계학적으로 유의하게 유두 암종에서 CK-19 발현율이 높았다($p<0.001$) (Table 1). 표본의 면역조직화학적 염색양상은 유두 암종에서 대부분의 종양 세포들이 균질하고 강하게 염색되었다. 소포 암종은 종양세포의 대부분에서 전혀 염색되지 않았고, 염색되는 경우에도 아주 국소적인 염색을 보였다. 소포 샘종이나 갑상샘종에서는 종양 세포에 국소적이지만 강한 염색을 보이는 경우가 많았고, 전혀 염색되지 않는 경우도 있었다(Fig. 3).

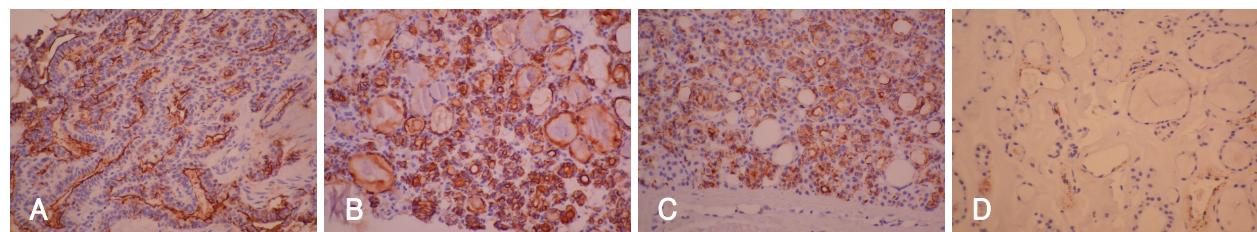


Fig. 2. Expression pattern of HBME-1 in the thyroid lesions. In papillary carcinoma, the tumor cells show diffuse and strong positive reaction (A). In follicular carcinoma, immunoreactivity is diffuse and strong positive (B). In follicular adenoma, immunoreactivity is diffuse and strong positive (C). In adenomatous goiter, immunoreactivity is focal and weak positive ($\times 200$)(D). HBME-1: Hector Battifora Mesothelial cell.

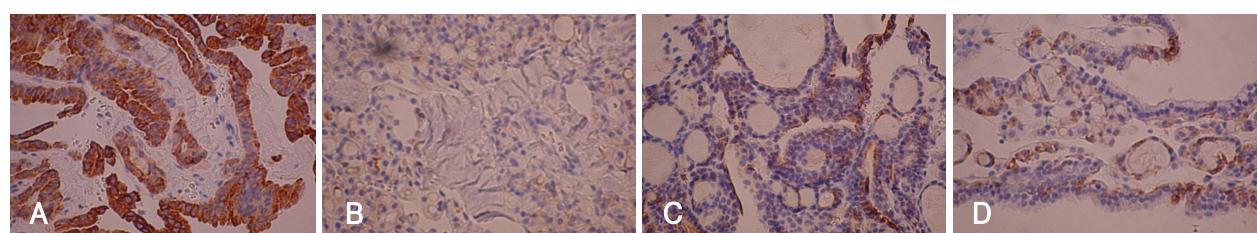


Fig. 3. Expression pattern of CK-19 in the thyroid lesions. In papillary carcinoma, the tumor cells show diffuse and strong positive reaction (A). In follicular carcinoma, immunoreactivity is focal and weak positive (B). In follicular adenoma, immunoreactivity is focally and strong positive (C). In adenomatous goiter, immunoreactivity is focal positive ($\times 200$)(D). CK-19: cytokeratin-19.

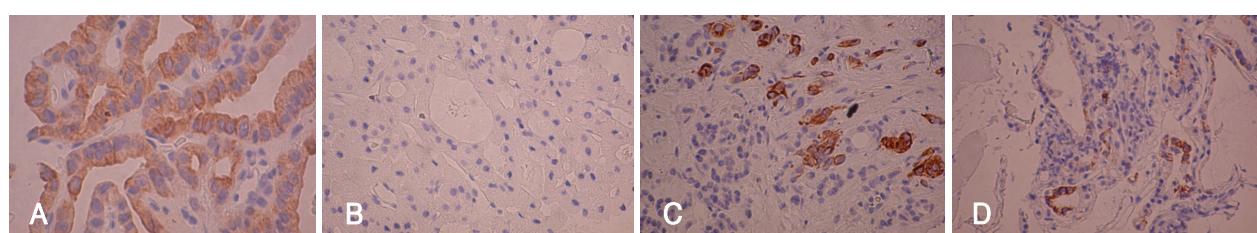


Fig. 4. Expression pattern of HMW-CK in the thyroid lesions. In papillary carcinoma, the tumor cells show diffuse and strong positive reaction (A). In follicular carcinoma, immunoreactivity is negative (B). In follicular adenoma, immunoreactivity is focal positive at margin of the tumor (C). In adenomatous goiter, immunoreactivity is focally positive ($\times 200$)(D). HMW-CK: high molecular weight cytokeratin.

HMW-CK을 이용한 면역조직화학검사

유두암종 14예 중 13예(92.9%)에서 양성 발현을 보였으나, 소포암종과 소포샘종, 갑상샘종은 모든 예에서 양성 발현을 보이지 않았다. HMW-CK의 발현율은 양성종양보다 악성종양에서 통계학적으로 유의하게 발현율이 높았다($p<0.001$). 소포암종과 소포샘종, 소포암종과 갑상샘종의 비교에서 HMW-CK의 발현율은 통계학적으로 차이가 없었다. 유두암종과 갑상샘종의 비교, 유두암종과 소포샘종의 비교, 유두암종과 소포암종의 비교에서는 모두 통계학적으로 유의하게 유두암종에서 HMW-CK 발현율이 높았다($p<0.001$) (Table 1). 표본의 면역조직화학적 염색양상은 유두암종에서 대부분의 종양세포들이 균질하고 강하게 염색되었다. 소포암종은 모든 예에서 종양세포에 전혀 염색되지 않았고, 소포샘종과 갑상샘종의 경우 각각 2예에서 부분적인 염색소견을 보였다(Fig. 4).

각 표지자(Marker)와 조합발현(Combinational expression)의 민감도와 특이도

갑상샘질환을 양성종양인 갑상샘종과 소포샘종, 악성종양인 유두암종과 소포암종 두 군으로 나누어 각 표지자들의 민감도와 특이도를 산출하였다. 모든 표지자들은 악성종양에 대해 85% 이상의 높은 특이도를 보였으나, 민감도

Table 2. Sensitivity and specificity of 4 markers in thyroid malignancy

	Sensitivity (%)	Specificity (%)
Thyroid malignancy		
Galectin-3	72	95
HBME-1	86	85
CK-19	68	95
HMW-CK	59	100
Papillary carcinoma		
CK-19	100	93
HMW-CK	92	100

Galectin-3: β -galactosid binding lectin, HBME-1: hector Battifora Mesothelial cell, CK-19: cytokeratin-19, HMW-CK: high molecular weight cytokeratin

Table 3. Sensitivity and specificity of combinational expression of markers in thyroid malignancy

	Sensitivity (%)	Specificity (%)
Galectin-3 or HBME-1	95	80
Galectin-3 or CK-19	72	90
Galectin-3 or HMW-CK	72	95
HBME-1 or CK-19	90	80
HBME-1 or HMW-CK	90	85
CK-19 or HMW-CK	68	95

Galectin-3: β -galactosid binding lectin, HBME-1: hector Battifora Mesothelial cell, CK-19: cytokeratin-19, HMW-CK: high molecular weight cytokeratin

는 4가지 표지자들 중 HBME-1이 86%로 가장 높았다. CK-19과 HMW-CK의 민감도는 각각 68%와 59%로 매우 낮았는데 이는 소포샘종에 비해 소포암종에서 낮은 발현율을 보였기 때문이다. 그러나 유두암종에 대해서는 CK-19이 민감도 100%, 특이도 93%, HMW-CK가 민감도 92%, 특이도 100%로 매우 높았다(Table 2).

4가지 중 2가지 표지자를 조합하여 2가지 표지자 중 1개 이상이 발현될 때 양성으로 판정하는 조합발현의 민감도와 특이도를 산출한 결과 악성종양의 진단에 가장 높은 민감도를 보인 경우는 Galectin-3와 HBME-1의 조합발현의 경우로 95%로 나타났으며, 가장 높은 특이도를 보인 경우는 Galectin-3와 HMW-CK의 조합발현의 경우로 95%로 나타났다(Table 3).

고찰

갑상샘 결절의 술전 병리학적 진단방법에는 미세침흡인세포검사와 초음파 유도하 중심 바늘 생검이 있다. 다른 여러 연구들이 갑상선술전 진단을 위하여 미세침흡인세포검사를 적용한 것에 반하여, 본 연구에서는 갑상샘 조직을 외래에서도 비교적 간단한 방법으로 할 수 있는 초음파 유도하 중심 바늘 생검을 통해 얻어진 표본을 사용하여 조직의 면역조직염색 소견을 추가하여 관찰함으로써 진단의 정확도를 높이고자 하였다.

갑상샘암종의 조직학적 진단은 치료와 예후에 매우 중요한데, 병리학자에 따라 진단에 다소의 차이를 보이는 것으로 알려져 있다. 5명의 병리학자들이 696예의 갑상선영구조직 표본을 WHO 분류기준에 따라 재검토한 Saxén 등⁷의 연구결과에 의하면 진단 일치율은 58%였고, Hirokawa 등⁸의 조사에서는 21예의 소포상갑상샘결절조직의 악성과 양성의 구분에서 4명씩의 미국 병리학자와 일본 병리학자 사이의 의견 일치는 62%로 나타났다.

이러한 갑상샘결절의 진단적 어려움 때문에 종양세포에서 단백질 발현 정도를 관찰하는 면역조직화학검사가 갑상샘결절의 진단에 도입되었다. Galectin-3는 세포의 성장과 분화, 부착, 악성변화, 전이에 관여하는 단백질이다. Cvejic 등⁹은 76예의 갑상샘 조직에 대한 Galectin-3의 면역화학 염색을 시행한 결과 유두암종의 100%, 갑상샘암종의 73%, 갑상샘종의 37%에서 양성 소견이 관찰되었으며, 미분화암종의 경우 100%에서 양성소견이 나왔으나 정상 갑상샘 조직에서는 염색이 되지 않음을 보고하였다. Inohara 등⁵은 술전검사에서 Galectin-3의 발현을 조사하면 수술적인 절제없이 악성과 양성을 감별 진단할 수

있다고 주장하였다. Bartolazzi 등¹⁰⁾은 226예의 술 전 초음파 유도하 미세침 흡인 검체에 대한 Galectin-3 염색과 술 후 조직학적 결과를 분석하여 보고하였는데, 술 전 Galectin-3 검사의 악성과 양성 결절의 구분에 대한 검사 민감도와 특이도가 각각 90%, 94%이었으며, 진단적인 정확도는 92%에 달하므로 수술적인 치료를 시행할 환자를 선택하는 데 술 전 검사로써 Galectin-3 염색이 갑상샘 결절 환자의 수술 치료방침 결정에 도움을 줄 수 있다고 주장하였다.

본 연구에서 갑상샘 결절의 Galectin-3의 발현양상은 소포 암종에서 25%, 소포 선종에서 14.3%에서 양성 발현을 보여 이 두 질환의 감별에는 도움이 되지 않았다. 양성 종양과 악성종양의 두 그룹 간 비교에서 Galectin-3의 발현율은 각각 4.8%, 72.7%로 통계적으로 유의하게 악성종양에서 높았으며, 유두 암종에서는 100%의 발현율을 보였다. 갑상샘 결절의 Galectin-3의 발현양상에 대한 국내 연구에서도,^{11,12)} Galectin-3 면역화학조직 검사가 소포 암종과 소포 선종의 감별에는 도움이 되지 않으며, 유두암 종의 종양 표지자 역할은 할 수 있다고 하여 본 연구의 연구결과와 일치하였다.

HBME-1은 중피세포의 미세 융모의 표면 단백과 반응하는 항체로 Miettinen 등¹³⁾은 갑상샘 종양에 HBME-1 염색을 시행한 결과 유두 암종 145예와 소포 암종 27예에서 대부분의 종양세포가 모두 양성 반응을 보였으며 갑상샘종에서는 약 1/3에서 부분적인 양성반응을 보여 갑상샘 종의 진단에 유용하다는 보고를 하였다. 이후 Sack 등¹⁴⁾은 술 전 검사에서 얻어진 24예의 갑상샘 조직에 HBME-1을 이용하여 면역조직화학 검사를 시행한 결과 14예의 갑상샘 암종 중에서 8예에서 강한 양성 반응을 보였으며, 10 예의 갑상샘 양성종양에서는 모두 음성 반응을 보여 갑상샘암의 술 전 진단에 HBME-1의 유용성을 보고하였다.

본 연구에서 갑상샘 결절의 HBME-1의 발현양상은 소포 암종에서 75%, 소포 선종에서 28.6%에서 양성 발현을 보여 4가지 표지자들 중 소포 암종에 가장 높은 발현율을 보였으나, 통계적인 유의성은 없었다($p=0.184$). 양성종양과 악성종양의 두 그룹 간 비교에서 HBME-1의 발현율은 각각 14.3%, 86.4%로 통계적으로 유의하게 악성종양에서 높았으며, 유두 암종에서는 92.9%의 발현율을 보였다.

세포골격단백(cytoskeletal protein)인 cytokeratin은 1982년 Permanetter 등¹⁵⁾이 갑상샘 종양의 진단에 적용하여 오직 유두 암종에 강한 양성을 보였다는 보고 이후, 갑상샘 종양의 진단에 cytokeratin을 적용한 많은 보고들이 있다. Raphael 등¹⁶⁾은 갑상선 조직의 동결절편 검사에

HMW-CK과 CK-19을 이용하여 면역조직화학 검사를 시행한 결과 통계적으로 유의하게 소포 종양과 양성 갑상샘종에 비하여 유두 암종에서 과발현된다고 보고하였다. 또한 Khurana 등¹⁷⁾은 57예의 갑상샘 결절의 술 전 검사를 통해 얻어진 표본에 CK-19을 통해 면역조직화학 검사를 시행한 결과 강양성 반응을 보였던 26예 모두 유두 암종으로 확진되었고 양양성 반응을 보인 31예 중 2예만이 유두 암종으로 확진되었고, 29예가 갑상샘 양성종양으로 확진되었음을 보고하여, 유두 암종의 진단에 CK-19의 면역조직화학 검사가 유용함을 보고하였다.

본 연구에서 갑상샘 결절의 CK-19의 발현양상은 소포 암종에서 12.5%, 소포 선종에서 14.3%, 갑상샘종에서 0%의 양성 발현을 보여 낮은 발현율을 보인것에 비하여, 유두 암종에서는 100%의 발현율을 보였다. 갑상샘 결절의 HMW-CK의 발현양상은 소포 암종, 소포 선종, 갑상샘종에서 양성 발현을 보인 경우는 없었으며, 유두 암종에서는 92.9%의 발현율을 보였다.

결론적으로 본 연구에서 다른 보고들과 유사하게 Galectin-3, HBME-1, CK-19, HMW-CK 4가지 표지자 모두 유두 암종에서 통계적으로 유의하게 높은 발현을 보였다. 이는 술 전 검사로서의 4가지 표지자들을 통한 면역조직화학 검사가 유두 암종의 진단에는 도움이 됨을 시사한다. 그러나 소포 암종과 소포 샘종의 감별에는 4가지 표지자 모두 통계학적인 의미를 가지지는 못하였다. 그러나 이 중 HBME-1이 소포 샘종에 비해 소포 암종에서 가장 높은 발현율을 보였으며, 염색되는 형태 역시 전반적으로 강한 염색을 보여 소포 종양의 감별진단에 4가지 표지자들 중 HBME-1이 가장 유용한 것으로 생각된다. de Matos 등¹⁸⁾도 술 후 확진된 갑상샘 종양 조직에 HBME-1, CK-19, Galectin-3의 3가지 표지자들을 이용하여 면역조직화학 검사를 시행한 결과 3가지 표지자 모두 유두 암종에는 특이적으로 과발현 되었으나 소포 종양의 감별진단에는 비특이적임을 보고하였다. 그러나 소포 암종에서 63%의 양성률을 보인 것을 함께 보고하여 3가지 표지자들 중 소포 종양의 감별진단에 HBME-1이 가장 유용함을 강조하여 본 연구의 결과와 일치하였다.

기존의 많은 연구들은 주로 술 후 조직검사에 면역조직화학 검사를 적용하였지만, 본 연구의 의의는 술 전 검사로써 면역조직화학 검사의 의미를 분석하려는 시도를 하였다. 는 것과 또한 술 전 검사로써의 미세침 흡인세포검사가 가지는 세포형태검사의 한계와 위음성이 많은 단점을 보완하기 위하여 초음파 유도하 중심 바늘 생검을 통하여 얻은 소량의 갑상샘 결절 조직에 면역조직화학 검사를 시행하여 진

단의 정확도를 높이려고 한 것이다.

또한 본 연구에서 4가지 표지자들의 악성종양에 대한 각각의 민감도는 68%에서 86%로 낮았으나, 2가지 표지자 중 1개 이상이 발현될 때 양성으로 판정하는 조합발현의 민감도와 특이도를 산출할 때 90% 이상의 민감도를 얻을 수 있었다. 특히 Galectin-3와 HBME-1의 조합발현의 경우 95%의 민감도를 나타내었으나 특이도는 80%로 낮아졌다. 본 연구에서 악성종양 진단에 가장 민감도가 높았던 HBME-1과 유두암종 진단에 특이도가 높았던 HMW-CK의 조합발현의 경우 90%의 민감도와 85%의 특이도를 나타내었다. 또한 Galectin-3와 HMW-CK, 그리고 CK-19과 HMW-CK의 조합발현의 경우 95%의 높은 특이도를 보였으나, 민감도는 각각 72%, 68%로 낮았다. 술 전 검사가 확진 검사가 아닌 선별 검사로써의 의미를 고려한다면 민감도가 높은 Galectin-3와 HBME-1, HBME-1과 HMW-CK의 조합발현의 분석이 의미가 있다. 따라서 갑상선 결절의 술 전 진단에 있어서 하나의 표지자를 통한 면역조직화학적 발현을 분석하기 보다는 2가지 이상의 표지자를 통한 조합발현의 분석이 진단에 도움이 될 것으로 생각된다.

결론적으로 갑상샘 결절의 술 전 진단으로 Galectin-3, HBME-1, HMW-CK, CK-19의 면역조직화학검사 결과 4가지 표지자 모두 유두암종에서 통계학적으로 유의하게 양성 발현율이 높아 유두암종의 진단에는 도움이 되나, 소포샘종과 소포암종의 감별에는 도움이 되지 않는 것으로 나타났다. 이는 갑상샘 결절 술 전 검사에서 소포병변이 있을 경우 4가지 표지자를 통한 면역조직화학검사는 수술 범위를 결정하는 데 도움이 되지 않음을 의미한다. 그러나 4가지 표지자 모두 갑상선 악성종양과 양성종양의 감별에는 술 전 검사로써 의미를 가지며, 특히 2가지 표지자 중 1개 이상이 발현될 때 양성으로 판정하는 조합발현의 분석은 Galectin-3와 HBME-1, HBME-1과 HMW-CK의 경우 민감도가 각각 95%, 90%로 술 전 검사로써 의미가 있다. 따라서 기존의 H&E 염색에서 세포형태학적으로 악성과 양성의 감별이 힘들 경우 면역조직화학 검사가 추가적인 정보를 제공해 줄 것으로 판단된다.

Acknowledgments

This study was supported by research funds from Dong-A University. These authors contributed equally to this study.

REFERENCES

- Nasser SM, Pitman MB, Pilch BZ, Faquin WC. Fine-needle aspiration biopsy of papillary thyroid carcinoma: diagnostic utility of cytokeratin 19 immunostaining. *Cancer* 2000;90(5):307-11.
- Screaton NJ, Berman LH, Grant JW. US-guided core-needle biopsy of the thyroid gland. *Radiology* 2003;226(3):827-32.
- Baloch ZW, Sack MJ, Yu GH, Livolsi VA, Gupta PK. Fine-needle aspiration of thyroid: an institutional experience. *Thyroid* 1998;8(7):565-9.
- Raber W, Kmen E, Kaserer K, Waldhäusl W, Vierhapper H. [The 'cold' nodule of the thyroid gland: 20 years experience with 2071 patients and diagnostic limits of fine-needle biopsy]. *Wien Klin Wochenschr* 1997;109(4):116-22.
- Inohara H, Honjo Y, Yoshii T, Akahani S, Yoshida J, Hattori K, et al. Expression of galectin-3 in fine-needle aspirates as a diagnostic marker differentiating benign from malignant thyroid neoplasms. *Cancer* 1999;85(11):2475-84.
- Beesley MF, McLaren KM. Cytokeratin 19 and galectin-3 immunohistochemistry in the differential diagnosis of solitary thyroid nodules. *Histopathology* 2002;41(3):236-43.
- Saxén E, Fransila K, Bjarnason O, Norman T, Ringertz N. Observer variation in histologic classification of thyroid cancer. *Acta Pathol Microbiol Scand A* 1978;86A(6):483-6.
- Hirokawa M, Carney JA, Goellner JR, DeLellis RA, Heffess CS, Katoh R, et al. Observer variation in encapsulated follicular lesion of the thyroid. *Am J Surg Pathol* 2002;26(11):1508-14.
- Cvejic D, Savin S, Paunovic I, Tatic S, Havelka M, Sinadinovic J. Immunohistochemical localization of galectin-3 in malignant and benign human thyroid tissue. *Anticancer Res* 1998;18(4A):2637-42.
- Bartolazzi A, Gasbarri A, Papotti M, Bussolati G, Lucante T, Khan A, et al. Application of an immunodiagnostic method for improving preoperative diagnosis of nodular thyroid lesions. *Lancet* 2001;357(9269):1644-50.
- Kang JW, Kim CJ, Nam SY. Expression of galectin-3 and its diagnostic utility as preoperative diagnostic marker for thyroid nodule. *Korean J Otolaryngol-Head Neck Surg* 2004;47(3):248-51.
- Yoo CK, Lee CH, Jang SG, Woo JS, Jung KY, Kwon SY, et al. Immunohistochemical expression of galectin-3 in thyroid tumors. *Korean J Otolaryngol-Head Neck Surg* 2005;48(6):760-64.
- Miettinen M, Karkkainen P. Differential reactivity of HBME-1 and CD15 antibodies in benign and malignant thyroid tumours. Preferential reactivity with malignant tumours. *Virchows Arch* 1996;429(4-5):213-19.
- Sack MJ, Astengo-Osuna C, Lin BT, Battifora H, LiVolsi VA. HBME-1 immunostaining in thyroid fine-needle aspirations: a useful marker in the diagnosis of carcinoma. *Mod Pathol* 1997;10(7):668-74.
- Permanetter W, Nathrath WB, Löhrs U. Immunohistochemical analysis of thyroglobulin and keratin in benign and malignant thyroid tumours. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1982;398(2):221-8.
- Raphael SJ, McKeown-Eyssen G, Asa SL. High-molecular-weight cytokeratin and cytokeratin-19 in the diagnosis of thyroid tumors. *Mod Pathol* 1994;7(3):295-300.
- Khurana KK, Truong LD, LiVolsi VA, Baloch ZW. Cytokeratin 19 immunolocalization in cell block preparation of thyroid aspirates. An adjunct to fine-needle aspiration diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127(5):579-83.
- de Matos PS, Ferreira AP, de Oliveira Facuri F, Assumpção LV, Metze K, Ward LS. Usefulness of HBME-1, cytokeratin 19 and galectin-3 immunostaining in the diagnosis of thyroid malignancy. *Histopathology* 2005;47(4):391-401.