

# 개 유선종양의 병리학적 관찰 및 유선 혼합종양의 연골기원에 관한 면역조직화학적 연구

김용백 · 서일복\* · 김재훈\*\* · 박은정\*\* · 김대용\*\*\* · 한정희\*\*\*\*

국립동물검역소 · 세명대학교 한의학과\* · 수의과학연구소 병리진단과\*\*  
서울대학교 수의과대학\*\*\* · 강원대학교 수의학과\*\*\*\*

(1997년 11월 25일 접수)

## Pathologic observations on the canine mammary gland tumors and immunohistochemical study on the origin of chondroid tissue in mammary gland mixed tumors

Yong-baek Kim, Il-bok Seo\*, Jae-hoon Kim\*\*, Eun-jung Bak\*\*, Dae-yong Kim\*\*\*  
Jeong-hee Han\*\*\*\*

*National Animal Quarantine Service, Department of Oriental Medicine, Semyung University\**  
*National Veterinary Research Institute\*\**

*College of Veterinary Medicine, Seoul National University\*\*\**  
*Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University\*\*\*\**

(Received Nov 25, 1997)

**Abstracts** : Sixteen mammary gland tumors were collected from Seoul National University and Kangwon National University.

The average age of the bitches with mammary gland tumor was 10 years. Total 17(60.7%) out of 28 tumor masses observed in 4th and 5th glands. Classification of these tumors according to Hampe and Misdorp were simple adenoma, complex adenoma, benign mixed tumor, papillary adenocarcinoma, solid adenocarcinoma and malignant mixed tumor.

Immunohistochemical reaction of the intermediate filaments against normal canine mammary gland showed as followed; anti-cytokeratin 18 was strong and anti-cytokeratin 14 was moderate to the luminal epithelium. Anti-cytokeratin 14 and anti-pancytokeratin to the myoepithelium were showed strong, but anti-vimentin was weak in reactivity. Anti-vimentin to the interstitial cells was represented strong reactivity.

The origin of cartilage in mixed tumor of canine mammary gland was studied immunohistochemically with antibodies against intermediate filament. In mammary gland mixed tumors, cartilage tumor tissues were surrounded with the irregularly demarcated three zones composed of adjacent star shaped cells in myxoid areas, proliferative spindle shaped cells and basal located

proliferated cells. From basal proliferated cells to star shaped cells, the immunohistochemical reactivity of myoepithelium specific anti-pancytokeratin was decreased gradually and the reactivity of interstitial cell specific anti-vimentin was increased gradually.

Based on these immunohistochemical staining patterns, we suggested that the origin of cartilagenous components in canine mammary gland mixed tumor is most likely to the proliferation and metaplasia of myoepithelium.

**Key words** : canine mammary gland tumor, mixed tumor, myoepithelium, cytokeratin, vimentin.

## 서 론

유선은 피부의 특수한 선(gland) 구조의 하나로 복합관포상선이며 피막, 간질성 결합조직, 선포 및 배출도관계로 구성되어 있고, 선조직은 결합조직에 의해 소엽으로 구획된다. 선조직은 선포와 분비도관으로 구성되어 있으며, 내강상피세포와 근상피세포 두 종류의 세포층으로 피복되어 있고 후자는 기저막과 접하여 있다. 개는 개체에 따라 다소의 차이는 있으나 대체로 흉부 및 복부에 각각 2쌍, 서혜부에 1쌍 등 총 5쌍의 유선을 가지고 있다<sup>1</sup>.

유선종양은 사람, 개, 고양이, 마우스, 랫트에서 다발하며 드물게 소, 양, 돼지, 염소 등에서도 발생한다<sup>2</sup>. 개의 유선종양은 피부종양 다음으로 다발하는 종양이며<sup>2,3</sup>, 암컷에서는 전체 종양의 약 25~50%를 차지한다<sup>2,4-8</sup>. 개 유선종양은 대개 10세를 전후하여 가장 많이 발생하며, 2세 이전에는 드물게 발생한다<sup>9</sup>. 유선종양은 약 2/3 가량이 후부 유선에서 발생하며<sup>3,10,11</sup>, 난소적출술을 받은 개에서는 발생율이 현저히 감소하기 때문에 유선종양의 발생이 호르몬과 관련됨이 시사되어 왔다<sup>3,12,13</sup>.

조직발생학적으로 유선종양은 도관 또는 선포를 피복하는 내강상피세포, 근상피세포 또는 결합조직으로부터 기원한다<sup>11</sup>. 개의 유선종양중 양성종양은 9~65%로 각각 다양하게 보고되어 왔는데<sup>2,14</sup>, 이런 차이는 종양분류의 기준을 서로 다르게 적용하였거나<sup>7,14</sup> 또는 유선종양의 형태학적 및 임상학적 다양성으로 인하여 악성과 양성을 구분하는 통일된 기준이 마련되지 못하였기 때문이다<sup>14,15</sup>.

지금까지 개 유선종양은 조직병리학적 기준으로 분류하거나<sup>16,17</sup>, 가장 현저한 형태학적 특징과 관련된 종양기원부위<sup>2</sup> 또는 종양의 임상적인 진행의 차이<sup>18</sup> 등을 기준으로 분류하는 등 연구자마다 그 분류방법이 다양하다.

개 유선종양은 다른 동물과는 상당히 이질적인 조직 형태학적 특성을 보인다<sup>7,8,14</sup>. 가장 두드러진 특징으로 내강상피세포의 증식과 더불어 방추형의 종양성 근상피세포 및 연골 또는 골조직이 동시에 관찰되는 혼합종양이 발생한다<sup>2,16</sup>. 개 양성유선종양의 대부분을 차지하는 혼합종은 방추형의 종양성 근상피세포의 현저한 증식이 매우 특징적인데, 사람의 경우 타액선의 다형성 선종에서도 근상피세포의 증식 및 연골과 같은 간질성 종양조직이 관찰된다<sup>15,19</sup>.

이러한 혼합종내의 연골양조직 및 간질성 종양조직의 기원에 관해서는 다양한 가설이 제시되어 왔다<sup>2,15</sup>. 즉, 종양조직과는 전혀 무관한 정상적인 것<sup>20</sup>, 종양조직내의 증식한 결합조직세포의 화생<sup>6,21</sup>, 근상피세포의 증식 및 화생<sup>10,22-26</sup> 등 크게 3가지의 가설로 대별할 수 있고, 아직까지도 논란이 계속되고 있다.

최근 종양의 분류, 종양세포의 기원 및 종양의 진행과정에 대한 많은 연구가 진행되어 왔는데 특히 세포 구조물에 대한 특이항체를 이용한 면역조직화학기법이 자주 이용되고 있다. 이들 세포 구조물중 중간 사상체는 세포 골격단백으로 cytokeratin, vimentin, desmin, neurofilament, glial fibrillary acidic filament(GFAP)로 나누며, 각각은 상피세포, 간질세포, 근세포, 신경세포, 신경교세포에서 특이적으로 발현된다<sup>27,28</sup>. 사람에 있어서 종양세포는 기원조직과 유사한 중간 사상체가 발현되기 때문에 조직내에서 이를 검사하는 것이 종양진단의 보조적인 수단으

로 매우 유용하게 활용되고 있다<sup>29-32</sup>. 최근에는 동물에서도 랫트, 마우스, 개, 고양이의 유선종양을 대상으로 중간 사상체에 대한 면역조직화학적 검사가 실시되어 그 유용성이 확인되고 있다<sup>19,35-37</sup>.

또한 개의 자연발생 유선종양은 여러가지 측면에서 사람의 유선종양과 유사하여 사람의 모델동물로 주장되어 왔다<sup>18,38,39</sup>.

근래 우리나라에서는 애완동물의 숫적 증가와 노령화 추세에 따라 종양의 발생이 점차 증가하고 있으나 이에 대한 연구가 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 자연발생한 개 유선종양의 병리조직학적 특성을 관찰하고, 면역조직화학적 방법을 이용하여 개 정상유선의 내강상피세포, 근상피세포 및 간질세포에서 각각 특이적으로 발현되는 중간 사상체의 종류를 확인하고, 개 유선종양조직에서 종양의 구성요소에 대한 특이적인 중간 사상체의 발현을 조사하며, 이를 바탕으로 개 유선종양조직에서의 연골조직의 기원을 규명하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

**실험조직 및 실험동물** : 1988년부터 1994년 3월까지 서울대학교 수의과대학 병리학교실과 1993년부터 1994년 사이에 강원대학교 수의학과 병리학교실에 진단의뢰된 12예의 개 유선종양 생검조직과 유선종양으로 폐사한 4예의 부검예를 대상으로 하였다.

**종양발생 연령 및 유선위치별 발생 조사** : 생검 및 부검시 개체의 연령을 조사하였으며, 유선의 위치별 종양 덩어리의 수를 기록하였다. 유선의 위치별 표시는 흉부에서 서혜부의 순서로 1번부터 5번까지의 번호로 나타내었으며, 각 개체당 여러개의 종양이 있을 경우 각각을 하나로 인정하였다.

**병리학적 검사** : 실험동물을 부검후 육안검사하고, 종양조직 및 주요 실질장기를 적출하여 10% 완충포름알데하이드 용액에 고정한 후, 통상적인 방법으로 처리하여 파라핀 포매하였다. 각 조직을 4 $\mu$ m의 절편으로 만들어 hematoxylin and eosin(H&E) 염색하여 광학현미경으로 관찰하였으며, Hampe와 Misdorp<sup>16</sup>의 WHO 분류기준에 따라 유선종양을 조직병리학적으로 분류하였다.

**면역조직화학적 검사** : 정상유선조직에서 상피세포, 근상피세포 및 간질세포에서 특이적으로 발현되는 중간

사상체중 cytokeratin과 vimentin을 확인하고, 유선종양내 연골조직의 기원을 확인하기 위해 ABC법을 응용하여 면역조직화학 염색을 실시하였다.

염색도중 조직이 떨어지는 것을 방지하기 위해서 poly-L-lysine으로 슬라이드를 처리하였으며, 파라핀조직을 4 $\mu$ m 두께를 절편한 후 탈파라핀 하여 면역조직화학 염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다. 사용된 1차 항체는 mouse anti-cytokeratin 18(C8541, Sigma, USA), mouse anti-cytokeratin 14(C8791, Sigma, USA), rabbit anti-pancytokeratin(IgG, Zymed labs, USA), mouse anti-vimentin(V5255, Sigma, USA)을 각각 1:40, 1:40, 1:100, 1:40으로 희석하여 사용하였다. 2차 항체와 avidin biotin complex(ABC)는 Elite ABC 키트(Vector Co, USA)와 ImmunoPure ABC 키트(Pierce, USA)를 사용하였다.

각각의 항원 발현정도는 구성요소에 대한 염색강도를 기준으로 하여 강, 중등도, 미약한 양성 및 음성으로 구분하여 기록하였다.

## 결 과

**유선종양의 발생연령 및 유선 위치별 발생** : 개 유선종양은 주로 7~14세에서 관찰되었으며, 평균 연령은 10세였다(Table 1). 각 유선종양의 유선위치별 종양의 발생은 Table 2와 같다. 이 중 6예는 여러 유선에서 종양 덩어리가 발생하였다. 총 28개의 종양이 4번 및 5번 유선에서 각각 9개(32.1%), 8개(28.6%) 관찰되어 다른 유선보다 높은 발생을 나타내었다.

Table 1. Incidences of canine mammary gland tumors according to age

Age(years)	3~6	7~10	11~15	Unknown
No. of cases	2	5	6	3

Table 2. Incidences of canine mammary gland tumors in teat position

Teat position	1st	2nd	3rd	4th	5th
No. of cases	3	3	5	9	8
Percentage	10.7	10.7	17.9	32.1	28.6

**병리조직학적 소견** : 유선종양을 WHO 분류기준에 의거 병리조직학적으로 분류하였던 바, 선종 4예, 양성 혼

합종 2예, 선암종 4예 및 악성 혼합종 6예로 나타났다. 이들중 선종은 단순형 3예와 복합형 1예로 분류되었으며, 선암종은 유두상 선암종 3예와 충실성 선암종 1예로 나눌 수 있었다.

1) 단순형 선종 : 종양조직은 두터운 결합조직에 의하여 주변 정상 유선조직과 잘 구분되고, 증식된 선조직은 대부분 1~2층의 거의 일정한 크기의 입방상피로 치밀하게 피복되어 있었으며, 작은 관강내에는 호산성의 균질한 내용물이 가득 들어 있었다. 부위에 따라서는 관강이 낭상으로 확장되어 관찰되었다. 종양세포는 원형 또는 난원형의 밝게 염색되는 핵을 가지고 있으며, 세포질내에 크기가 다양한 공포를 가지고 있었다. 한 예에서는 증식성 소엽들중 일부에서 호산성의 뚜렷한 핵소체를 지닌 다양한 모양의 세포가 다층으로 치밀하게 배열하여 불규칙한 모양의 내강을 형성하고 있었으며, 일부에서는 유두상 증식이 관찰되었다.

2) 복합형 선종 : 종양조직은 주변 정상조직과 한계가 뚜렷하였으며, 일부 광범위한 피사부위가 관찰되었다. 종양세포집단은 미세한 간질조직에 의해 잘 구획되어 있었으며, 단층 또는 다층의 입방형 내지 낮은 원주형 세포가 관강을 형성하고 있었고, 일부 관강내에는 호산성의 물질이 들어 있었다. 부위에 따라 증식된 선조직의 주변부에서 1~2개의 핵소체를 갖고 밝게 염색되는 난원형의 핵을 갖는 방추형세포가 증식되어 있었으며, 일부는 도관상피세포 주위 또는 관강내로 결절상으로 증식되어 있었다(Fig 1).

3) 양성혼합종 : 종양조직은 주변조직과 한계가 뚜렷하여 다양한 모양과 크기의 내강을 갖는 부분과 세포가 치밀하게 배열된 부분, 점액양 부위, 유약한 형태의 유연골조직으로 구성되어 있었다. 관강내에는 호산성의 균질한 물질이 차 다소 확장되어 있고, 단층 내지 두층의 입방세포로 피복되어 있다. 점액양 부위에 연하여 충실성의 배열을 나타내는 방추형 세포가 그 대부분을 차지하며, 일부의 세포는 미성숙한 내강을 형성하고 있는 것이 관찰되기도 하였다. 점액양 부위 내부에서는 성상의 돌기를 갖는 세포가 호염성의 기질에 매몰되어 관찰되었으며, 부위에 따라 연골소강을 형성하였다.

4) 충실성 선암종 : 종양조직은 미세한 간질조직에 의해 구획되어 있었으며, 주변 간질내로 침윤성 성장을 하고 있었다. 대부분의 종양조직은 세포가 치밀하게 증식되어 관강을 형성하지는 않았으나 부위에 따라서는 불

분명한 내강을 형성하기도 하였다(Fig 2). 종양세포는 호산성의 뚜렷한 핵소체를 가지고 있는 원형 또는 난원형의 밝게 염색되는 핵과 경계가 불명확한 세포질로 이루어져 있었다. 종양조직의 전반에 걸쳐 중등도의 핵분열상이 관찰되었으며, 종종 기괴한 모양의 세포가 관찰되었다.

5) 유두상 선암종 : 종양조직은 침윤성 성장으로 인하여 주위 간질조직과 경계가 불분명하였으며, 각 종양세포집단은 미세한 간질에 의하여 구획되어 있었다. 종양조직은 다양한 크기와 형태의 내강을 지닌 도관을 형성하고 있으며, 강내로 유두상 증식이 현저하였다(Fig 3). 강내로 돌출된 종양조직은 두 층 내지 다 층의 치밀하게 배열된 불규칙한 형태의 종양세포로 구성되어 있었다. 부위에 따라서는 종양성 상피세포 하부에 방추형의 세포가 증식되어 있으며, 일부에서는 성상의 세포질을 갖는 세포들이 광범위하게 증식하여 관강구조를 압박하거나 대체하고 있었다.

6) 악성 혼합종 : 종양조직은 상피성 종양조직과 미숙한 형태의 연골을 형성하고 있는 간질성 종양조직으로 구성되어 있었으며(Fig 4), 주변조직과 경계가 불분명하였다. 상피성 종양조직은 다양한 크기의 내강을 형성하며, 부위에 따라서는 호염성의 세포가 매우 치밀하게 코드상의 배열을 하거나 유두상 성장을 보이기도 하였다. 불규칙한 두 층 내지 다 층의 세포로 피복된 불분명한 내강을 형성하기도 하였으며 주변 간질조직내로의 침윤성 성장을 보이기도 하였다.

부위에 따라 결절상으로 증식된 점액양 부위가 관찰되고, 일부는 크기가 작은 방추형의 세포가 충실성의 배열을 보였다. 이러한 세포들은 점액양 부위에 연하거나 또는 독립되어 관찰되기도 하였다. 점액양 부위의 주변에서 관찰되는 방추형 세포들은 내부로 갈수록 세포간의 간격이 점차 멀어지고, 세포질에 성상돌기를 갖는 세포가 균질한 기질내에 매몰되어 관찰되었다(Fig 5). 이러한 부위와 더불어 미성숙한 형태의 연골조직이 관찰되며, 보다 미성숙한 연골양 조직이 방추형의 세포로 둘러싸인 부위도 관찰된다. 강내로 유두상 증식을 보이는 부위에서 두 층 내지 다 층의 원주형세포로 피복된 종양조직의 내부에 성상의 돌기를 갖는 점액양 부위와 함께 유연골조직이 관찰되기도 하였다(Fig 6).

#### 면역조직화학적 소견 :

1) 정상 유선조직에서 중간 사삼체의 발현 : 정상 유

**Table 3.** Expression of various intermediate filaments in each cell population of normal canine mammary glands

Population	cy18 <sup>*</sup>	cy14 <sup>*</sup>	pancy <sup>**</sup>	vim <sup>***</sup>
Epithelium				
tubular	+++	++	-	-
alveoli	+++	++	-	-
Myoepithelium	+	+++	+++	+
Interstitial cell				
fibroblast	-	-	-	+++
chondroblast	-	-	-	+++

- : negative, + : weak, ++ : moderate, +++ : strong, cy<sup>\*</sup> : cytokeratin, pancy<sup>\*\*</sup> : pancyokeratin, vim<sup>\*\*\*</sup> ; vimentin

**Table 4.** Immunohistochemical staining intensity for cell population in pre-chondroid tissue

Population	cy18 <sup>*</sup>	cy14 <sup>*</sup>	pancy <sup>**</sup>	vim <sup>***</sup>
Basal proliferated cell	-	+++	+++	+
Spindle shaped cell	-	++	++	++
Chondroid cell	-	-	-	+++

- : negative, + : weak, ++ : moderate, +++ : strong, cy<sup>\*</sup> : cytokeratin, pancy<sup>\*\*</sup> : pancyokeratin, vim<sup>\*\*\*</sup> ; vimentin

선조직의 구성요소에 대한 중간 사상체의 발현결과는 Table 3과 같다.

**Anti-cytokeratin 18(IgG)** : 정상 유선조직내에서 관강을 형성하고 있는 입방 내지 낮은 원주형상피에서 갈색의 강한 양성반응이 관찰되었다.

**Anti-cytokeratin 14(IgM)** : 근상피세포에서 강한 양성반응을 관찰하였으며 관강을 형성하고 있는 내강상피에서도 중등도의 양성반응이 있었다.

**Anti-pancytokeratin(IgG)** : 큰 도관주위 및 선포주변의 근상피세포에서 특이적인 양성반응을 보였다(Fig 7).

**Anti-vimentin(IgM)** : 섬유아세포 및 연골아세포와 같은 간질세포에서 강한 양성반응을 나타내었으며 근상피세포에는 아주 미약한 양성반응만 관찰되었다.

2) 유선혼합종양에서 중간 사상체의 발현 : 연골조직의 기원을 규명하기 위하여 유선혼합종 내에서 중간 사상체의 발현을 조사한 결과는 Table 4와 같다. 조직병리학적으로 연골의 전단계로 보이는 부위에서는 세포를 단계별로 내강상피 기저부의 증식성 세포, 충실성의 배열을 보이는 방추형 세포, 기질내에 매몰되어 있는 성상의 돌기를 갖는 세포, 유연골 세포(chondroid cells)로 구분하여 그 염색강도를 기록하였다. 정상 및 유선종양조

직에서 근상피 세포에 특이성을 보인 anti-pancytokeratin의 양성반응이 유연골조직으로 갈수록 점차 감소하고 있는 반면, 간질세포에 특이성을 보이는 anti-vimentin의 양성반응이 점차로 증가하는 것을 관찰할 수 있었다(Fig 8).

## 고 찰

본 연구에서는 연령이 확인된 총 13예중 11예의 개가 7세 이상에서 유선종양이 발생하였고, 그 평균연령은 10세 였다. 또한 4번 및 5번 유선에서의 발생이 총 60.7%로 나타나 다른 연구자들과 유사한 발생연령 및 유선위 치별 발생율을 나타냈다<sup>2,5,7,10,12,40</sup>.

Moulton *et al*<sup>10</sup>은 유선종양에 대해 병리조직학적으로 분류의 토대를 마련하였으며, Misdorp *et al*<sup>41-43</sup>은 악성 유선종양을 크게 육종, 암종, 특수한 형태의 암종 및 악성 유선혼합종으로 크게 대별하였다. 이러한 조직병리학적인 소견을 바탕으로 Hampe와 Misdorp<sup>16</sup>는 유선종양을 보다 세분화하여 종양의 구성세포가 내강상피세포 또는 근상피세포 한가지로만 구성될 때 단순형이란 용어를, 두가지 상피세포의 종양성 변화가 동시에 존재할

때 복합형이란 용어를 사용하였다. 또한 양성 유선종양을 선종, 유두종, 섬유선종, 양성 혼합종으로 구분하고 악성 유선종양을 유두상 선암종, 충실성 암종, 방추형 세포암종, 미분화 암종, 편평상피암종, 점액양 암종, 악성 혼합종으로 세분하였다.

Gilbertson<sup>18</sup>은 사람의 유선종양 분류의 기준으로 이용되고 있는 내강상피세포의 이행성 정도, 핵분화도, 림프구의 반응정도 등을 개 유선종양에 적용하여 분류하여 본 바, 종양의 유형별 발생상황이 사람과 유사하게 나타나 사람 유선암의 형성과정과 치료법에 있어서 모델동물로 이용이 가능하다 하였다<sup>38,39,44</sup>.

본 연구에서는 Hampe와 Misdorp<sup>16</sup>의 형태학적인 기준을 적용하여 자연발생한 개 유선종양을 분류한 바, 총 16예중 단순형 선종 3예, 복합형 선종 1예, 양성 혼합종 2예, 충실성 선암종 1예, 유두상 선암종 3예, 악성 혼합종 6예로 분류되었다. 악성종양이 10예로 아주 높은 비율을 차지하였으며, 혼합종양이 8예로 50%를 차지하였다. 이렇게 악성종양의 비율이 높은 이유는 본 연구에서 공시된 예는 특정 모집단을 대상으로 관찰한 것이 아니고, 평균 연령이 10세 이상의 환견이 유선종양으로 인해 상태가 악화되어 병원에 내원한 예가 대부분이기 때문이다.

조직병리학적 분류상 개 유선종양중 혼합종의 높은 발생은 다른 동물 또는 다른 부위종양과 비교할 때 매우 특징적이다<sup>2,5,43,45</sup>. Misdorp *et al*<sup>43</sup>은 혼합종은 상피성 종양요소와 더불어 간질성 종양요소를 닮은 부위가 동시에 출현하는 것이라 정의하였으며, 간질성 종양요소로는 주로 연골조직이 관찰되며 가끔 골조직, 지방조직 등도 출현한다고 하였다. 이러한 혼합종내에서 연골의 기원에 관하여는 다양한 주장이 제시되고 있다. Anderson과 Jarrett<sup>5</sup>은 상피세포가 종양화될 때 결합조직내로 침윤하는 경향이 있고, 이 부위에 점액성 물질을 분비, 침착시켜 연골 및 골조직으로 화생된다고 하였다. 반면 Monlux *et al*<sup>6</sup>은 위연골(pseudocartilage) 또는 위골조직(pseudobone)의 소강과 비슷한 세포주변의 테두리는 증식성 종양세포 또는 간질내로 빠져나온 종양성 상피세포의 분비물과 관련이 있지만 혼합종내의 연골과 골조직은 종양조직과는 무관한 이질적인 것이라고 하였다. Palmer와 Monlux<sup>21</sup>은 유선혼합종양 내에서 산성 점액 다당류의 발현을 조사하고 이것이 정상적인 초자연골의 기질과 동일한 발현을 나타내기 때문에 이들 연골은 간질 또

는 중배엽 유래일 것이라 추정하였다.

Moulton *et al*<sup>10</sup>은 병리조직학적으로 유선혼합종내의 연골과 골조직은 간질조직의 화생에 의해서도 가능하지만 대부분은 증식성 근상피세포의 화생에 의한 것이라 추정하였다. Tateyama *et al*<sup>22,26</sup>은 개 유선혼합종양내에서 정상적인 근상피세포는 5-8nm의 세포질내 사상체가 대부분이며, 선종성 부위에서 내강상피와 연하여서는 8-10nm의 사상체가 세포질내 흩어져 있는 상태로 소수 관찰된다고 하였다. 반면 점액양 부위 및 연골양 부위에서 발견되는 세포는 8-10nm의 세포질내 사상체가 대부분을 차지한다고 하였다. 또한 유선혼합 종양조직에서 이러한 세포로의 이행형태가 관찰된다는 것을 확인하여 사상체 세포는 근상피세포 유래일 것이라고 하였다.

Mori *et al*<sup>48</sup>은 40여개의 사람 타액선 유래 다형성 선종을 대상으로 근상피세포에 특이적인 cytokeratin을 이용하여 조직발생과정을 밝히고, 다형성 선종의 다양한 조직병리학적 특징을 나타내는데 있어서 근상피세포가 필수적인 세포라 하였다. 또한 Kissane<sup>49</sup>은 사람 타액선 다형성 선종의 조직학적 특징중의 하나인 연골양조직은 근상피세포 유래의 기질에서 기원한다고 하였다. Caselitz *et al*<sup>50</sup>은 사람 타액선의 근상피세포가 vimentin에 양성반응을 보이는 것을 관찰하였으며, Stead *et al*<sup>51</sup>은 근상피세포의 확인을 위해 keratin, S-100, GFAP 등의 여러 가지 marker의 복합적인 사용이 필요하다고 하였다. Gould *et al*<sup>52</sup>은 근상피세포에서 cytokeratin, vimentin, GFAP의 동시발현을 관찰하고 근상피세포의 아군이 존재할 것이라 추정하였다.

현재 cytokeratin은 약 20여개의 아군을 가지고 있으며, 이들은 각각의 상피세포에서 그 발현이 다르므로 상피성 종양의 세분화에 유용하다<sup>34,53-55</sup>. 또한 cytokeratin은 종양 진행과정중에 나타나는 발현정도가 변화하므로 염색의 강도로써 세포의 변환을 확인할 수 있다고 하였다<sup>36,56</sup>. 이러한 사실은 최근 변이된 c-Ha-ras oncogene이 사람 상피세포 cytokeratin의 양을 변화시켜 결국 형태학적인 변화를 유발한다는 것이 확인되었다<sup>57</sup>. 지금까지 아군중 사람 유선조직의 내강상피에는 cytokeratin 18이, 근상피세포에는 cytokeratin 14가 특이성이 있다는 것이 알려져 있다<sup>58-61</sup>.

본 연구에서는 정상 개 유선조직에서 cytokeratin 18은 내강상피세포에 특이적으로 발현되었으며 cytokeratin 14는 근상피세포에 강한 양성반응을 나타내었다. 그러

나 cytokeratin 14는 내강상피에서도 중등도의 양성반응을 나타내어 그 특이성이 인정되지 않았다. 반면, 여러 상피세포에 특이성이 있다고 알려진 pancytkeratin은 정상 및 종양유선조직에서 근상피세포에 특이성이 인정되었다. 또한 vimentin의 발현은 간질세포에서 특이적으로 관찰되었다.

Griffy *et al*<sup>62</sup>은 개 유선조직 및 종양조직에서 내강상피세포 및 근상피세포에 각각 특이적인 312C8-1(cytokeratin 18)과 13H5(cytokeratin 14)을 이용하여 종양의 구성세포를 확인하였으며 증식성 간질 부위내의 여러세포가 근상피세포에 특이적인 cytokeratin에 염색됨을 확인하여 개 유선종양에서의 다양한 조직병리학적 소견은 근상피세포의 변화때문이라고 하였다.

본 연구에서는 병리조직학적 연골형성의 초기단계라 여겨지는 내강상피세포 하부의 방추형 세포가 증식된 부위, 중간단계인 방추형 세포가 결절상으로 치밀하게 증식된 부위와 이와 연해서 성상의 돌기를 갖는 세포들이 기질내에 매몰되어 나타나는 부위 및 미숙한 형태의 연골조직부위에 대하여 중간 사상체의 발현정도를 검사하였다. Cytokeratin 14 및 pancytkeratin의 염색강도는 초기단계에는 강하였으나 점차로 미약하게 나타난 반면 vimentin의 염색강도는 초기단계에는 미약하였으나 점차 강하게 나타났다. 이와같은 소견으로 미루어 개 유선혼합종내의 연골조직은 근상피세포의 증식 및 화생에 의한 것으로 사료된다.

앞으로 개 유선종양의 유형에 따른 보다 많은 임상적 자료의 수집과 함께 예후를 정확하게 나타낼 수 있는 분류방법이 제시되어야 할 것이다. 또한 개 유선종양이 사람 유선종양에 대한 모델동물로서의 유용성에 대한 보다 상세한 평가가 필요할 것이다.

## 결론

서울대학교와 강원대학교 수의과대학에 의뢰되어 유

선종양으로 진단된 12예의 생검예와 4예의 부검예를 대상으로 발생연령 및 발생위치를 조사하였으며, 유선종양을 병리조직학적으로 분류하여 그 특성을 관찰하였다. 유선혼합종양에서의 연골조직의 기원을 규명하기 위하여 개의 정상유선조직에 대해서 anti-cytokeratin 18, anti-cytokeratin 14, anti-pancytkeratin, anti-vimentin에 대한 면역조직화학염색으로 각 항원의 발현을 확인한 후, 8예의 유선혼합종양의 각 종양요소에서 중간 사상체 발현을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 유선종양의 평균 자연발생 연령은 10세였으며, 4번과 5번 유선에서의 발생이 60.7%로 높았다.

2. 자연발생한 개 유선종양 16예는 병리조직학적으로 선종(4예), 양성혼합종(2예), 선암종(4예), 악성혼합종(6예)으로 분류되었다.

3. 정상유선조직에서 anti-cytokeratin 18은 내강상피에 강한 양성반응, anti-cytokeratin 14는 근상피세포에 강한 양성반응 및 내강상피에 중등도의 양성반응, anti-pancytkeratin은 근상피세포, anti-vimentin은 간질세포에 강한 양성반응을 나타내었다. 이상의 반응에서 내강상피에는 cytokeratin 18이, 근상피세포에는 pancytkeratin이 특이적이었으며, 간질세포에는 vimentin이 특이적으로 발현되는 것을 관찰하였다.

4. 유선혼합종양 8예중 방추형의 세포가 치밀하게 증식된 부위에서는 pancytkeratin과 cytokeratin 14 및 vimentin의 중등도의 양성반응, 성상의 돌기를 갖는 세포가 느슨하게 배열되어 기질에 매몰되어 관찰되는 부위에서는 pancytkeratin은 약한 양성반응 및 vimentin의 강한 양성반응이 관찰되었으며, 미숙한 형태의 연골양 조직에서는 pancytkeratin은 거의 반응을 나타내지 않았으며, vimentin은 강한 양성반응을 나타내었다.

5. 개 유선혼합종양에서 병리조직학적으로 연골형성의 단계로 보이는 부위에서의 각 종양세포에 대한 중간 사상체의 발현정도를 종합할 때 연골조직은 증식성 근상피세포가 그 기원인 것으로 사료된다.

## Legends for figures

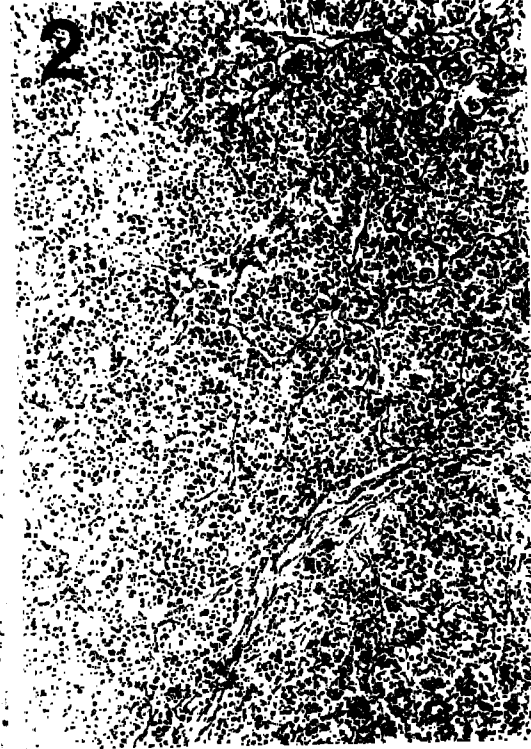
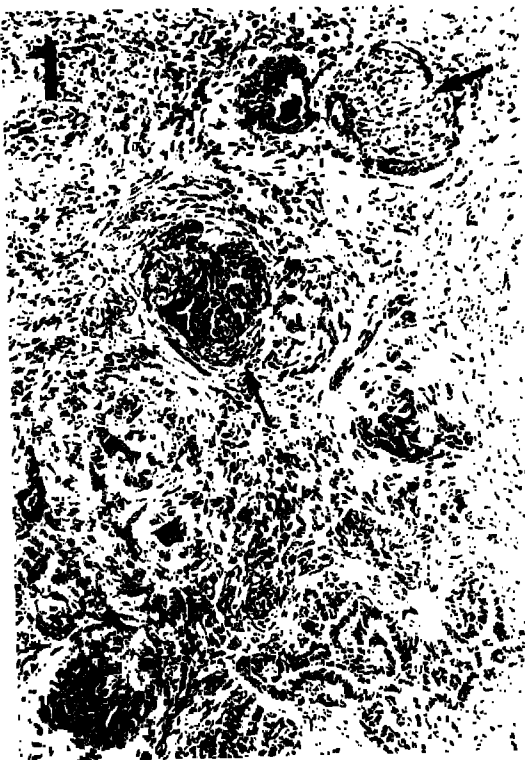
Fig 1. Complex adenoma of the canine mammary gland. Proliferation of spindle shaped myoepithelial cells was prominent around duct lined by simple cuboidal cell(small arrow) and was caused the obliteration of tubules(large arrow). H&E, ×100

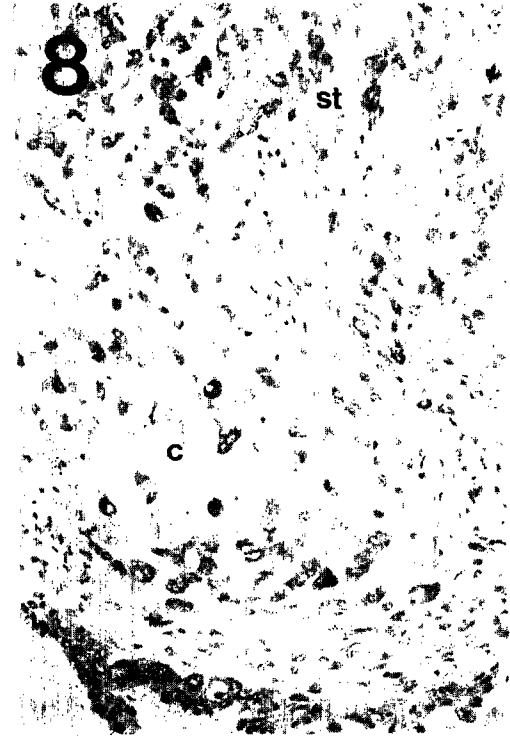
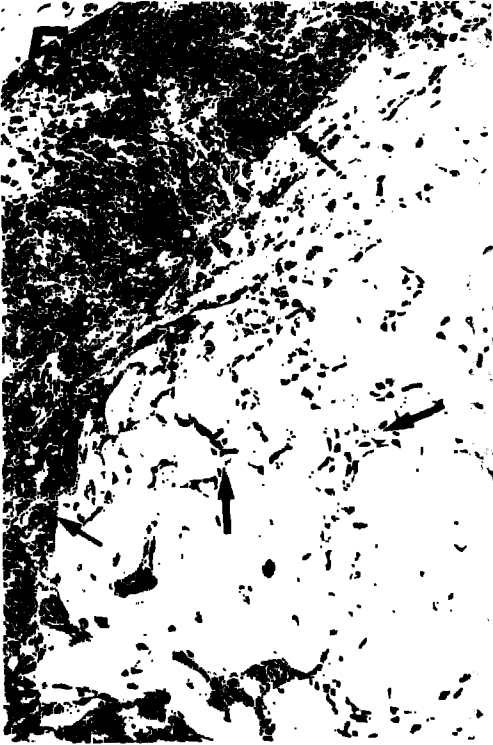
- Fig 2. Solid carcinoma of the canine mammary gland. Tumor cells were arranged in solid pattern. Tumor cells nests are separated by thin fibrous connective tissue. H&E, × 100
- Fig 3. Papillary adenocarcinoma of the canine mammary gland. Papillary projections into the lumens were prominent. Papillae with thin connective stalks are lined by two or more layers of cuboidal cells. H&E, × 100
- Fig 4. Malignant mixed tumor of mammary gland. On carcinomatous areas(arrow), basophilic cells are arranged in solid, cord, or papillary pattern and form immature lumen in some areas. In sarcomatous areas, chondroidal tumor tissue(c) is observed. H&E, × 100
- Fig 5. Malignant mixed tumor of mammary gland. Spindle cells(small arrow) around myxoid areas are arranged in irregular pattern. Consequently, star-shaped cells(large arrow) are present sparsely in myxoid area, H&E, × 200
- Fig 6. Malignant mixed tumor of mammary gland. The papillae composed with two or more layer of irregular shaped cells, myxoid areas with star-shaped cells(st), and chondroid areas(c). H&E, × 200
- Fig 7. Immunoreactivity of anti-pancytokeratin in normal mammary gland. Strong positive reaction was observed in the basal located myoepithelium(arrow), but not for luminal epithelium and interstitial cells. ABC stain
- Fig 8. Immunoreactivity of anti-vimentin in mammary gland mixed tumor. Strong positive reaction for star-shaped cells(st) and chondroid cells(c) were observed in chondroid area. ABC stain

## 참 고 문 헌

1. Silver IA. Symposium on mammary neoplasia in the dog and cat- I. The anatomy of the mammary gland of the dog and cat. *J Small Anim Pract*, 7:689-696, 1966.
2. Moulton JE. Tumours of the mammary gland, In : *Tumours in Domestic Animals*. 3rd ed., University of California press, pp 518-552, 1990.
3. MacVean DW, Monlux AW, Anderson JPS, *et al*. Frequency of canine and feline tumors in a defined population. *Vet Pathol*, 15:700-715, 1978.
4. Riser WH. Surgical removal of the mammary gland of the bitch. *JAVMA*, 110:86-90, 1947.
5. Anderson LJ, Jarrett WEH. Mammary neoplasia in the dog and cat- II. Clinico-pathological aspects of mammary tumors in the dog and cat. *J Small Anim Pract*, 7:697-701, 1966.
6. Monlux AW, Roszel JF, MacVean DW, *et al*. Classification of epithelial canine mammary tumors in a defend population. *Vet Pathol*, 14:194-217, 1977.
7. Ferguson, HR. Canine mammary gland tumours. *Vet Clin North Am, Small Anim Pract*, 15:501-511, 1985.
8. Madewell BR. Tumours of the mammary gland. In : *Veterinary Cancer Medicine*. 2nd ed., Lea Febiger press, pp327-344, 1987.
9. Fidler IJ, Brodey RS. A necropsy study of canine malignant mammary neoplasms. *JAVMA*, 151:710-715, 1967.
10. Moulton JE, Taylor DON, Dorn CR, *et al*. Canine mammary tumors. *Vet Pathol*, 7:289-320, 1970.
11. Fowler EH, Wilson GP, Koestner A. Biologic behavior of canine mammary neoplasms based on a histogenetic classification. *Vet Pathol*, 11:212-229, 1974.
12. Mulligan RM. Mammary cancer in the dog : a study of 120 cases. *Am J Vet Res*, 36:1391-1396, 1975.
13. Priester WA. Occurrence of mammary neoplasms in bitches in relation to breed, age, tumour type and geographical region from which reported. *J Small Anim Pract*, 20:1-11, 1979.
14. Bostock DE. Canine and feline mammary neoplasm. *Br Vet J*, 142:506-515, 1986.
15. Nerurkar VR, Chitale AR, Jalnapurkar BV, *et al*. Comparative pathology of canine mammary tumours. *J Comp Pathol*, 101:389-397, 1989.
16. Hampe JF, Misdorp W. Tumours and dysplasia of the mammary gland. *Bull Wld Hlth Org*, 50:111-133,







- 1974.
17. Della Sadal L, Sarli G, Benazzi G, *et al.* Giant cells in anaplastic mammary carcinoma of the dog and cat. *J Comp Pathol*, 109: 345-160, 1993.
  18. Gilbertson SR, Kurzman ID, Zachrou RE, *et al.* Canine mammary epithelial neoplasms: Biologic implications of morphologic characteristics assessed in 232 dogs. *Vet Pathol*, 20:127-142, 1983.
  19. Hellmen E, Lindgren A. The expression of intermediate filaments in canine mammary glands and their tumors. *Vet Pathol*, 26:420-428, 1989.
  20. Moulton JE. Histological classification of canine mammary tumors : study of 107 tumors. *Conn Vet*, 44: 168-180, 1954.
  21. Palmer TE, Monlux AW. Acid mucopolysaccharides in mammary tumors of dogs. *Vet Pathol*, 16:493-509, 1979.
  22. Tateyama S, Ishida K, Yamamoto S. Studies on mixed mammary tumor in dog : II. Electron microscopical observation. *Jpn J Vet Sci*, 32(suppl):78, 1970.
  23. Bomhard DV, Sandersleben JV. The ultrastructure of mixed mammary gland tumors in bitches. I. The incidence of myoepithelial cells in myxoid areas. *Virchows Arch A Path Anat*, 359:87-96, 1973.
  24. Bomhard DV, Sandersleben JV. The ultrastructure of mixed mammary gland tumors in bitches. II. The incidence of myoepithelial cells in chondroid areas. *Virchows Arch A Path Anat*, 362:157-157, 1974.
  25. Tateyama S, Cotchin E. Alkaline phosphatase reaction of canine mammary mixed tumours : a light and electron microscopic study. *Res Vet Sci*, 23:356-364, 1977.
  26. Tateyama S, Cotchin E. Electron microscopic observation on canine mixed mammary tumours with special reference to cytoplasmic filamentous components. *Am J Vet Res*, 39:1494-1501, 1978.
  27. Ishigawa H, Bischoff R, Holtzer H. Mitosis and intermediate sized filaments in developing skeletal muscle. *J Cell Biol*, 38:538-555, 1968.
  28. Lazarides E. Intermediate filaments as mechanical integrators of cellular space. *Nature*, 283:249-256, 1980.
  29. Gabbiani G, Kapanci Y, Barazzone P. *et al.* Immunohistochemical identification of intermediate sized filaments in human neoplastic cells. *Am J Pathol*, 104:206-216, 1981.
  30. Damjanov I. Antibodies to intermediate filaments and histogenesis. *Lab Invest*, 47:215-217, 1982.
  31. Osborn M, Weber K. Intermediate filaments : Cell-type-specific markers in differentiation and pathology. *Cell*, 31:303~306, 1982.
  32. Du Boulay CEH. Immunohistochemistry of soft tissue tumors : A review. *J Pathol*, 146:77-94, 1985.
  33. Said WJ. Immunohistochemical localization of keratin proteins in tumor diagnosis. *Hum Pathol*, 14:1017-1019, 1983.
  34. Cooper D, Schermer A, Sun T-T. Classification of human epithelia and their neoplasms using monoclonal antibodies to keratins: strategies, application and limitation. *Lab Invest*. 52:243-256, 1985.
  35. Moore AS, Madewell BR, Lund JK. Immunohistochemical evaluation of intermediate filament expression in canine and feline neoplasms. *Am J Vet Res*, 50:88-92, 1989.
  36. Destexhe E, Lespagnard L, Degeyter M, *et al.* Immunohistochemical identification of myoepithelial, epithelial and connective tissue cells in canine mammary tumors. *Vet Pathol*, 30:146-154, 1993.
  37. Hellmen E, Bergstrom R, Holmberg L, *et al.* Prognostic factors in canine mammary tumors : A multivariate study of 202 consecutive cases. *Vet Pathol*, 30:20-27, 1993.
  38. Dorn CR, Taylor DON, Schneider R, *et al.* Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California. II. Cancer morbidity in dogs and cats from Alameda County. *J Natl Cancer Inst*, 40:307~318, 1968.
  39. Strandberg JD, Goodman DG. Animal model of breast cancer. Animal model : Canine mammary neoplasia. *Am J Pathol*, 75:225-228, 1974.
  40. Fidler IJ, Abt DA, Brodey RS. The biological behavior of canine mammary neoplasms. *JAVMA*, 151: 1311-1318, 1967.

41. Misdorp W, Cotchin E, Hampe JF, *et al.* Canine malignant mammary tumours : I Sarcomas. *Vet Pathol*, 8:99-117, 1971.
42. Misdorp W, Cotchin E, Hampe JF, *et al.* Canine malignant mammary tumours : II . Adenocarcinomas, solid carcinomas and spindle cell carcinomas. *Vet Pathol*, 9:447-470, 1972.
43. Misdorp W, Cotchin E, Hampe JF, *et al.* Canine malignant mammary tumours : III . Special types of carcinomas, malignant mixed tumors. *Vet Pathol*, 10: 241-256, 1973.
44. Schneider R. Comparison of age, sex, and incidence rates in human and canine breast cancer. *Cancer*, 26: 419~426, 1970.
45. Jabara AG. Canine mixed tumors. *Austral Vet J*, 36: 212-221, 1960.
46. Pulley LT. Ultrastructural and histochemical demonstration of myoepithelium in the normal canine mammary gland. *Am J Vet Res*, 34:1505-1512, 1973a.
47. Pulley LT. Ultrastructural and histochemical demonstration of myoepithelium in the normal canine mammary gland. *Am J Vet Res*, 34:1513-1522, 1973b.
48. Mori M, Sumitomo S, Iwai Y, *et al.* Immunolocalization of keratins in salivary gland pleomorphic adenoma using monoclonal antibodies. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 61:611-616, 1986.
49. Kissane JM. Salivary gland : In : Anderson's Pathology. 8th ed. The CV Mosby Company, pp1030-1047, 1985.
50. Caselitz J, Osborn M, Wustrow, *et al.* The expression of different intermediate sized filaments in human salivary glands and their tumors. *Path Res Pract*. 175: 266-278. 1982.
51. Stead RH, Qizibash AH, Kontozoglou T, *et al.* An immunohistochemical study of pleomorphic adenomas of the salivary gland : Glial fibrillary acidic protein-like immunoreactivity identifies a major myoepithelial component. *Hum Pathol*, 19:32-40, 1988.
52. Gould VE, Koukoulis GK, Jansson DS, *et al.* Coexpression patterns of vimentin and glial filament protein with cytokeratins in the normal, hyperplastic and neoplastic breast. *Am J Pathol*, 137:1143-1155, 1990.
53. Moll R, Franke WW, Schiller DL, *et al.* The catalog of human cytokeratins : patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell*, 31:11-24, 1982.
54. Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, *et al.* Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation : monoclonal antibody studies. *Cell*, 30:361-372, 1982.
55. Van Muijen, GNP, Ruiter KJ, Donec M, *et al.* Monoclonal antibodies with different specificities against cytokeratins : An immunohistochemical study of normal tissue and tumors. *Am J Pathol*, 114:9-17, 1984.
56. Asch BB, Asch HL. A keratin epitope that is exposed in a subpopulation of preneoplastic mouse mammary epithelial cells but not in normal. *Cancer Res*, 46: 1255-1262, 1986.
57. Paine TM, Fontanini G, Balolo F, *et al.* Mutated c-Ha-ras oncogene alters cytokeratin expression in the human breast epithelial cell line MCF-10A. *Am J Pathol*, 140:1483~1488, 1992.
58. Dairkee SH, Blayney C, Smith HS, *et al.* Monoclonal antibody that defines human myoepithelium. *Proc Natl Acad Sci USA*, 82: 7409-7413, 1985.
59. Jarasch ED, Nagle RB, Kaufmann M, *et al.* Differential diagnosis of benign epithelial proliferations and carcinomas of the breast using antibodies to cytokeratins. *Hum Pathol*, 19:276-289, 1988.
60. Wetzels RHW, Holland R, van Haelst UJGM, *et al.* Detecton of basement membrane components and cell keratin 14 in noninvasive and invasive carcinomas of the breast. *Am J Pathol*, 134:571-579, 1989.
61. Tsubura A, Okada H, Senzaki H, *et al.* Keratin expression in the normal breast and in breast carcinoma. *Histopathology*, 18:517-522, 1991.
62. Griffey SM, Madewell BR, Dairkee SH, *et al.* Immunohistochemical reactivity of basal and luminal epithelium-specific cytokeratin antibodies within normal and neoplastic canine mammary glands. *Vet Pathol*, 30:155~161, 1993.