

간세포암의 Type IV Collagen 및 Fibronectin의 분포에 관한 면역조직화학적 검색

고신대학 의학부 병리학 교실
허 방, 임 학, 허만하

Immunohistochemical Investigation for Distribution of Type IV Collagen and Fibronectin in Hepatocellular Carcinoma

Bang Hur, Hak Rim, Man Ha Huh

*Department of Pathology
Kosin Medical College, Pusan 602-702, Korea*

=Abstract=

It is well known that some of the basement membrane glycoproteins are synthesized and expressed in neoplastic hepatic tissue in spite of absence of an intact, organized basement membrane in the normal liver parenchyma.

In an attempt to examine the distribution and expression patterns of basement membrane glycoproteins in hepatocellular carcinoma (HCC), immunohistochemical localization of type IV collagen and fibronectin is performed. Fifty cases of HCC are histologically analyzed and paraffin-embedded sections are immunostained with monoclonal antibodies to type IV collagen and fibronectin (Avidin-Biotin-Peroxidase Complex).

Positive reactions to type IV collagen and fibronectin are observed in extracellular spaces. Intracellular expression of fibronectin in some cases is observed.

The distribution patterns of these glycoproteins are categorized into four locations : perisinusoidal (Pattern I), periacinar (Pattern

II), stromal(Pattern III), and pericellular(Pattern IV) areas. patterns I and II are distributed throughout the lesion, while patterns III and IV are observed in focal areas of the neoplastic tissues. These findings suggest that deposition of basement membrane glycoproteins in the extracellular matrix may be related to the histologic types of HCC.

In well-differentiated neoplastic cells(Edmondson grades I and II) organized in trabecular and/or acinar pattern, type IV collagen and fibronectin are always detected in the sinusoidal surface as pattern I and/or II. In normal liver parenchyma, type II collagen and fibronectin are also expressed in the sinusoidal surface. However, in less-differentiated neoplasms(Edmondson grades III and IV), sinusoids are almost absent and only fibrotic stroma with vascularized connective tissue is reactive to type IV collagen and fibronectin. These findings suggest that the expression of basement membrane glycoproteins may be influenced by the degree of differentiation.

Intracellular expression of fibronectin is noted in 30 cases of hepatocellular carcinoma(60%), while it is not observed in normal liver cells. The expression modes can be classified into 3 patterns : 1)scattered, 2)stromal interface, or 3)mixed pattern. The stromal interface pattern is frequently observed in highly differentiated tumors and clear cell type of HCC. The significances of these findings are remained to be resolved.

Key Words : Type IV Collagen, Fibronectin, Hepatocellular carcinoma.

서 론

기저막의 구성은 여러학자들에 의해 밝혀진바 대로 type IV collagen(C-IV)과 laminin, fibronectin(FN), heparan sulfate proteoglycan 등 non-collagenous components로 이루어져있다^{1,11,12,13,26,45,62,63}. C-IV은 기저막의 structural protein으로서 구성세포의 유기관성구조의 토대역할을 하는 거대분자 당단백으로^{5,28,34,36,67}, 상피세포에서 생성되어 여러 생화학적 경로를 거쳐 간질로 운반된다. 이 당단백의 분포는 비정상적인 상태, 즉 염증 또는 종양 등에서 조직의 구조적

변화와 관련되어 있는 것으로 보고되어 있다^{1,4,7,9,17,24,37,47,56}).

FN은 세포의 표면, 기저막, 세포외 기질등에 존재하는 고분자량의 adhesive protein으로, 세포의 활동이 활발한 배형성시에 세포의 이동과 부착에 필수적으로 관여할 뿐만 아니라, FN 수용체를 통한 collagen, fibrin 및 DNA 등과 결합할 수 있는 능력을 가지고 있어 세포의 성장과 분화에도 중요한 작용을 한다^{27,33,36,61,66}. 이들 기저막 당단백의 표현은 세포의 기능적 및 형태적 특성과 세포외 기질등의 미세환경에 의해 결정되어지는 것으로 알려져있다³⁸). 따라서 성장과 분화의

다양성을 보이는 악성조직에서 이 당단백의 표현은 정상조직에서와 달리 나타날 것으로 기대되고, 실제로 침윤성 성장을 보이는 암 조직에서 기저막의 결손이 관찰되며^{1,34)}, 암화과정에서 이 당단백의 소실이 보고되기도 하였다^{1,4,48,52)}.

정상 간조직에서는 간문맥역에 있는 담관 및 세담관과 간동맥 및 문맥등에 제한되어 기저막이 존재할 뿐이며, 간실질에는 완전한 형태의 기저막이 없는 것으로 알려져 있으나^{54,66)} 기저막 당단백항체를 이용한 면역조직화학적기법의 발달로 정상간조직에서의 기저막 당단백분포가 알려지기 시작하였다^{1,66)}. 그 결과 기저막 당단백의 일종이 C-IV과 FN이 연속된 형태로 organization되지는 않으나 동양구조를 따라 표현되며, 이는 전자현미경으로도 불완전한 기저막물질이 있는것으로 확인된 바 있다.

간의 실질은 완전한 기저막을 가지지 않는 특성이 있다. 이러한 점에 비추어 간세포암에서 구성세포의 유기관성 구축과 성장 및 이의 바탕이 되는 기저막 당단백의 양상은 병리학적 관심의 대상이 될 수 있다. 실제로 간세포암에서 C-IV 및 FN 등의 기저막 당단백의 출현과 그 표현양상에 대하여 소수의 보고가 있었으나^{25,58)} 국내의 보고는 접하기 힘들뿐더러 국내외를 막론하고 간세포암의 형태학적 소견과의 상관성을 검색한 업적은 접하기 어려웠다. 이에 저자는 본 검색을 통하여 간세포암에서 C-IV과 FN의 분포와 그 표현 양상을 조직학적 및 세포학적 유형, 그리고 분화도와와의 상관성을 조사하고 이를 보고한다.

재료 및 방법

1. 재 료

검색에 필요한 재료는 1974년 부터 1988년 까지 15년동안 고신의료원에서 외과적으로 적출된 간 가검물 중에서 원발성 간세포암으로 진단된 50례를 대상으로 하였다. 7

례의 정상 간조직을 대조군으로, 6례의 간경변성 조직을 참고군으로 선정하였다.

2. 관찰방법

1) 형태학적 분류 : 총50례의 대상군 조직의 대표적 부위를 파라핀 포매한 다음 4-5 μ m로 연속 박절하여 통상의 H-E염색과 필요에 따라 결체조직 염색인 reticulin 및 trichrome 염색을 실시하였다. 조직학적 및 세포학적 분류는 WHO의 기준¹⁶⁾과 Okuda의 변형된 분류법⁴³⁾을 적용하여 시행하고 분화도는 Edmondson 기준¹⁰⁾에 준하였다.

2) 면역조직화학적 검색 : 포르말린에 고정된 총 63례의 대상, 대조 및 참고군의 파라핀 포매조직을 연속 박절하여 탈파라핀 과정을 거친 후 0.3% trypsin(Sigma)으로 predigestion시켰다. 항 C-IV항체(DAKO사)와 항 FN 항체(Lipshaw사)를 각각 Hsu 등이 개발한 ABC(Avidin-Biotin-Peroxidase Complex) 방법²²⁾을 이용한 면역조직화학적 반응을 관찰하였다.

관찰소견

1. 간세포암의 형태학적 분류

50례의 간세포암의 조직학적 및 세포학적 유형, 그리고 분화도에 따른 분류는 Table 1과 같다.

3가지 각 유형별 분류에서 순수한 유형이 아닌 2가지 이상의 유형이 혼재하였을 경우는 그 구성유형의 우세에 따라 분류하였다.

2. 면역조직화학적 검색

1) 정상대조군

정상 간조직 7례와 간경변성조직 6례의 각 대조군 및 참고군에서 C-IV과 FN의 분포는 Table 2와 3에서와 같다.

7례의 정상 간조직중 C-IV은 5례에서, FN은 4례에서 양성반응을 보였다. 이들의 분포위치는 간실질에서는 동양구조를 따라 출현하였고, 간문맥역에서는 담관 및 혈관의

Table 1. Classification of Hepatocellular Carcinoma

Histologic Type		Cytologic Type		Differentiation	
Type	No.(%)	Type	No.(%)	Type	No.(%)
Trabecular	32(64.0)	Hepatic	46(92.0)	Grade - I	15(30.0)
Acinar	10(20.0)	Clear	2(4.0)	Grade - II	23(46.0)
Compact	6(12.0)	Pleomorphic	1(2.0)	Grade - III	8(16.0)
Sclerosing	2(4.0)	Small	1(2.0)	Grade - IV	4(8.0)

벽에서 양성소견을 보였다. 그리고 반응의 강도가 뚜렷한 것을 (+)로, 양성반응의 정도가 극히 미약하여 고배율시야에서 확인이 가능한 경우를 (±)로, 반응이 없는 경우를 (-)로 표하였다(Fig.1, 2).

6례의 간경변성조직중 C-IV과 FN은 각 2례에서 양성반응을 보였다. 이들의 분포 위치는 동양구조뿐만 아니라 경변성 간소엽의

말초부에 접한 섬유성 띠에서도 관찰되었으며, C-IV에서 뚜렷하였다(Fig. 3)

2) 대상군

전체 50례의 간세포암중 C-IV은 41례(82%)에서, FN은 40례(80%)에서 양성반응을 볼 수 있었고, 음성반응을 보였던 각 9례와 10례중 5례에서는 2가지 기저막 당단백이 동시에 관찰되지 않았다.

Table 2. Expression of Type IV Collagen and Fibronectin in Normal Liver

Expression	Type IV Collagen (N=5/7)	Fibronectin (N=4/7)
Parenchyme		
Perisinusoid	+	-
Intracellular	-	-
Portal Area		
Bile Duct Wall	+	±
Vessel Wall	+	±

(+) : positive, (±) : weakly positive, (-) : negative

Table 3. Expression of Type IV Collagen and Fibronectin in Cirrhotic Liver

Expression	Type IV Collagen (N=2/6)	Fibronectin (N=2/6)
Parenchyme		
Perisinusoid	+	-
Intracellular	-	-
Fibrotic Band	+	±
Portal Area		
Bile Duct Wall	+	±
Vessel Wall	+	±

(+) : positive, (±) : weakly positive, (-) : negative

C-IV 및 FN은 부위에 따라 반응정도의 차이는 있으나 종양 실질세포 둘레에 위치해 있는 미세한 동양구조를 따라 출현하였다. 또한 섬유성 간질조직의 형성이 있는 부위, 그리고 국소적이기는 하나 개개의 종양세포의 둘레에서도 양성반응을 보여 주었다.

이들 2가지 기저막 당단백의 분포양상은 비슷하나 C-IV이 섬유성 간질형성을 보이는 곳에서 더욱 뚜렷하였고, FN이 일부의 종양세포에서도 관찰되는 점이 특이하였다. 아울러 FN에서 보다 C-IV에 대한 반응의 강도가 강한 경향을 보여주었다(Table 4).

세포외 기질에서 관찰되는 C-IV 및 FN의 표현 양상과 그 특성을 Jagirdar 등이 고안 하였던 바에 따라 4가지 유형으로 분류할 수 있었다(Table 5).

I 형은 동양구조의 표면을 따라 얇거나 두꺼운 선상의 띠로 표현될 경우(Fig. 3, 4), II 형은 선방형 종양소의 둘레를 따라 원형의 얇은 띠로 표현될 경우(Fig. 5), IV 형은 개개의 종양세포 둘레에 얇은 선상으로 표현된 경우(Fig. 6)로 하였고, I 형과 II 형은 대체

로 종양의 전반에 걸쳐서 고르게 분포하는 반면, III 형과 IV 형은 종양조직의 제한된 부위에서만 관찰되었다.

C-IV 및 FN의 각 유형별 표현양상은 Table 6에서 보는 것처럼 단일한 형태로 표현되는 경우는 소수이며 대부분 2가지 이상의 혼합된 양상이었다. 특히 개개의 종양세포주위로 반응을 보이는 IV 형 단독으로 표현된 경우는 FN에 대한 1례 뿐이었다.

각 유형별 표현빈도는 I 형이 C-IV 34례(82.9%), FN 31례(77.5%)로 가장 많으며, II 형이 각각 20례(48.8%), 17례(42.5%), III 형이 각각 11례(26.8%), 12례(30.0%), IV 형이 2례(4.9%), 5례(12.5%)의 순이었다.

이들 기저막 당단백의 표현 양상을 간세포암의 조직학적 유형과 비교하여 볼 때, C-IV에 대한 반응에서, 색상형 3례중 2례(75.0%)가 I 형과 II 형외에도 III 형에서 다수 관찰되며, 경화형은 I 형과 III 형으로는 표현되지 않았다. FN에 대한 반응으로 색상형과 선방형이 각각 24례(75.0%), 9례(90.

Table 4. Expression of Type IV Collagen and Fibronectin in HCC

Expression	Type IV Colloagen (N=41)	Fibronectin (N=40)
Intensity	more	less
Location		
Sinusoidal surface	+	+
Fibrotic stroma	+	±
Intracellular	-	+

(+) : positive, (±) : weakly positive, (-) : negative

Table 5. Expression patterns of Type IV Collagen and Fibronectin

Pattern	Location	Expression mode
I	Perisinusoidal surface	Linear, thin or thick strand
II	Periacinar surface	Circular, thin strand
III	Stromal	Irregular thick strand, focal
IV	Pericellular	Thin strand, focal

Table 6. Distribution of Expression Patterns

Pattern	Type IV Collagen		Fibronectin	
	N=41	%	N=40	%
I	34(7)	82.9	31(7)	77.5
II	20(2)	48.8	17(2)	42.5
W	11(2)	26.8	12(6)	30.0
IV	2(0)	4.9	5(1)	12.9

Table 7. Expression Patterns and Histological Types of HCC

Histologic types	Trabecular		Acinar		Compact		Sclerosing	
	N=32		N=10		N=6		N=2	
Patterns(C-IV/FN)	C-IV	FN	C-IV	FN	C-IV	FN	C-IV	FN
I (34/31)	24	24	6	5	4	2	0	0
II (20/17)	6	8	10	9	1	0	1	0
III (11/12)	6	6	2	1	2	1	1	2
IV (2/5)	1	3	1	1	0	1	0	0

0%)에서 I 형과 II 형으로 많이 분포되어 있으며, 충실형은 II 형을 제외한 모든 형에서, 경화형은 III 형으로만 표현되었다. 따라서 이들 양자의 분포 양상은 극소수의 IV 형을 제외하고는 대체로 종양의 세포와 기질의 분포와 일치하는 경향을 보여 주었다. 특히 IV 형으로 표현된 2례의 C-IV는 색상형과 선방형에서만, 또한 5례의 FN은 주로 색상형에서 관찰되었다(Table 7).

C-IV와 FN의 표현양상을 Edmondson 기준에 준해서 Grade I과 II를 고분화형, Grade-III과 IV를 저분화형으로 분류하여 보면 Table 8과 같다.

I 형과 II 형은 고분화형에서 C-IV이 각각 26례(76.5%), 18례(90.0%), FN은 각각 25례(80.7%), 16례(94.1%)로 저분화형에서 보다 압도적으로 우세하게 나타났으며, III 형은 저분화형에서도 C-IV와 FN이 각각 4례(36.4%, 33.3%)씩 나타나 I 형과 II 형만큼 고분화형에서 두드러지게 표현되지 않았다. IV 형의 C-IV는 분화형에 관계없이 동일한 비율로 표현되나 IV 형의 FN은 고분화

형에서 우세하게 나타났다.

간세포암의 세포학적 유형과 C-IV 및 FN의 분포양상을 비교해 볼때, 전체 50례중 92%에 해당하는 46례가 간세포형에 해당하여 세포학적 유형과의 상관성을 비교 검색하기는 불가능 하였다. 그러나 2례의 담명세포형 간세포암은 C-IV와 FN에 대해 각각 IV 형과 III 형 및 IV 형으로는 표현되지 않았고, 다태세포형 1례와 소세포형 1례는 C-IV 및 FN에 대해 각각 III 형과 I 형으로만 표현되었다(Table 9).

FN은 C-IV과는 달리 종양세포내에서도 표현되었으며, 전체 50례중 30례(60%)에서 관찰되었다(Table 10).

이들의 분포 양상은 종양 조직내에서 부위에 따라 산발적인 분포를 보이기도 하고 (Fig 7), 간질조직에 인접한 종양세포에 분포되기도 하였다(Fig 8). 산발적인 분포를 보이는 경우 대개 종양세포의 핵주위에서 과립상으로 표현되었으며, 후자의 경우에는 간질쪽의 세포질에서만 양성 반응을 보였다.

FN이 세포외 기질의 organization에 관여

한다는 측면에서 간질조직에 접한 양성반응형을 간세포암의 조직학적, 세포학적 유형 및 분화도와 상관성을 보면 Table 11과 같다.

종양간질에 인접한 종양세포내 FN양성을 보이는 12례중 11례(91.7%)가 Grade-I과 II의 고분화형에서 관찰되었고 Grade-III과 IV에서 FN이 표현되는 빈도는 Grade

Table 8. Expression Patterns and Differentiation of HCC

Differentiation Patterns(C-IV)	Well (N=30)		Poorly (N=12)	
	C-IV (%)	FN (%)	C-IV (%)	FN (%)
I (34/31)	26(76.5)	25(80.7)	8(23.5)	6(19.3)
II (20/17)	18(90.0)	16(94.1)	2(10.0)	1(5.9)
III(11/12)	7(63.6)	8(66.7)	4(36.4)	4(33.3)
IV (2/5)	1(50.0)	4(80.0)	1(50.0)	1(20.0)

Table 9. Expression Patterns and Cytologic Types of HCC

Cytologic types Patterns(C-IV/FN)	Hepatic N=46		Clear N=2		Pleomorphic N=1		Small N=1	
	C-IV	FN	C-IV	FN	C-IV	FN	C-IV	FN
I (34/31)	31	28	2	2	0	0	1	1
II (20/17)	19	16	1	1	0	0	0	0
III(11/12)	9	11	1	0	1	1	0	0
IV (2/ 5)	2	5	0	0	0	0	0	0

Table 10. Expression Mode of Intracellular Fibronectin of HCC

Expression mode	No. (30/50)	Percent
Stromal interface	12	40 %
Scattered	15	50 %
Mixed	3	10 %

Table 11. Stromal Interface Fibronectin and Histo-Cytologic Types and Differentiation of HCC

Histologic types	No. (%)	Cytologic types	No. (%)	Differentiation degree	No. (%)
Trabecular	7/32 (21.9)	Hepatic	10/46 (21.7)	Grade-I	5/15 (33.3)
Acinar	4/10 (40.0)	Clear	2/2 (100)	Grade-II	6/23 (26.1)
Compact	1/6 (16.7)	Pleomorphic	0/1 (0)	Grade-III	1/8 (12.5)
Sclerosing	0/2 (0)	Small	0/1 (0)	Grade-IV	0/1 (0)

가 높아질수록 그 빈도가 떨어지는 경향을 보였다. 그러나 종양의 조직학적 유형과의 관련성을 볼때 선방형에서 다소 높은 빈도로 나타났다. 또한 간세포암의 세포학적 유형과의 관계를 살펴 볼 때 담명세포로 구성된 간세포암 2례 모두에서 간질인접부의 세포질에서 FN이 표현되었다.

고 안

조직의 유기관성 구축은 실질세포와 세포 간질사이에 일어나는 생화학적 상호관계의 결과이며, 이러한 상호관계는 그 조직이 처해 있는 기능적 및 생리학적 상태에 따라 여러가지의 경로를 통해 이루어지는 것으로 알려져 있다^{19,34,36}). 특히 정상실질 세포의 성장과 분화의 발판으로서 C-IV, laminin, FN등과 같은 기저막 당단백의 생성과, 기질 내에서의 이들 당단백의 organization은 필수적인 요건이다^{14,59}). 이러한 기저막 당단백은 암성 조직의 국소적인 침윤과 전이 과정에서 중요한 방어적 역할을 하게 되며, 특히 FN과 같은 당단백은 암화 과정에서 소실 또는 감소가 있는 것으로 보고된 바 있다^{1,32,34,53}).

정상 간 실질 조직은 완전한 형태의 기저막을 가지지 못하므로, 간세포암에서의 구성 세포의 성장과 이의 바탕이 되는 기저막 당단백의 양상은 종양의 병리발생학적 측면에서 관심의 대상이 된다. 또한 이들 기저막 당단백의 표현이 간세포암의 구성세포의 기능 및 형태학적인 특성과 미세환경에서 전달되어지는 여러 생화학적 신호체계에 의해서 달라질 수 있는 것으로 되어 있다³⁸). 그 예로서, 기저막 당단백 항체를 이용한 면역화학적 방법으로 여러 간병변에서 이들의 분포 및 표현양상의 이상이 보고되고 있다^{19,20,25,31,32,49,67}). 간세포암에서 이들의 분포 및 표현양상을 조사한 본검색은 이러한 일련의 검색에 속한다고 할 것이다.

간세포암에서 이 2가지의 기저막 당단백

의 분포를 동시에 검색한 이전의 보고는 없었으나, 몇몇 저자들에 의하여 C-IV, laminin, FN등의 개개의 기저막 당단백의 표현양상이 언급된 바는 있으나^{19,24,25,67}), 이 보고들은 간세포암의 빈도가 낮은 서구인을 대상으로 조사한 것으로서, 그 발생빈도가 현저하게 높은 우리나라에서 이와같은 기저막 당단백의 분포를 조사한 것은 거의 없는 실정이다. Grigioni등에 의하면 간세포암에서 C-IV는 동양구조 및 종양간질 조직에 분포된 큰 혈관에 표현된다고 하였고¹⁹), Jagirdar등에 의하면 FN은 동양구조 및 간질조직 뿐만 아니라 종양세포내에서도 관찰된다고 하였다²⁵). 또한 Tsumagari는 간세포암 뿐만 아니라 간세포암의 cell line에서 FN은 암조직에 분포된 혈관의 내피세포의 표면과 암세포내에서도 표현된다고 하였다⁶⁶).

총 50례의 간세포암을 대상으로 조사한 본 검색에서 C-IV 및 FN은 공히 동양구조와 섬유성 간질에서 동시에 표현되는 양상을 보여 본질적인 표현상의 차이는 인정되지 않았다. 그러나 본 연구에서는 C-IV는 9례(18%), FN은 10례(20%)에서 음성반응을 보였으며, 양성반응을 보이는 경우라 할지라도 부위에 따라 반응을 보이지 않는 예도 있었다. 그러나 이와같은 기저막 당단백에 음성반응을 보이는 경우에 대하여 언급된 기왕의 보고례는 없었다. 이러한 음성반응의 가능한 원인들로는 다음의 몇가지를 고려할 수 있다. 첫째, paraffin 포매조직을 이용한 면역 조직화학적 검색의 고정액으로서는 포르말린보다 알코올 또는 Carnoy 용액이 더욱 정확한 결과를 보일 수 있다는 점^{38,53}), 둘째, trypsin으로 predigestion 시킬 경우 조직표본 자체의 digestion과 조직표본의 탈락을 초래할 수 있다는 점^{42,53}), 세째, 종양세포에서 분비될 수 있는 protease의 생성 증가에 따른 당단백의 분해^{6,53})가 있을 수 있다는 점, 네째, 종양세포의 기저막 당단백의 항원성이 감소되거나 감추어질 수 있다는 점 등이 그것이다²⁰). 본 검색의 관찰 방법에서 연

급되었듯이, 검색에 필요한 조직 표본을 이미 포르말린에 고정되어 있었던 것을 사용한 점과, trypsin으로 전처치한 점 등이 일부의 검색재료에서 음성반응을 초래하지 않았을까 하는 추정이 가능하다. 정상 대조군에서 C-IV 및 FN이 각각 5례(72.4%)와 4례(58.2%)에서 미약한 반응을 보이는 예도 있었으나, 전례에서 모두 양성소견을 보이지 않는 것은 이와 같은 맥락에서 이해될 수 있을 것이다.

본 검색에서의 이들 당단백의 표현 위치는 기왕에 보고된 문헌^{19,24,25,66)}에서와 같이 동양구조 및 간질에 분포하며, 특히 간질조직에서의 반응을 보일때는 C-IV가 FN보다 강하게 표현되는 경향이 있었다. 이 점은 간경화증의 초기단계에서 FN이 현저하게 나타나나 말기에 접어들면 collagen으로 대체되어 진다는 사실과 부합되어 보인다^{25,29)}.

C-IV 및 FN에 반응을 보이는 예에서 이들 기저막 당단백의 분포양상을 Jagirdar등이 제시한 바에 따라 4가지 유형으로 분류가 가능하였다. 제 I 형에 해당하는 것은 정상간 대조군에서와 같이 동양구조를 따라 얇은 선상의 띠로서 표현되는 것으로서, 부분적으로는 간경변성 조직에서처럼 두꺼운 띠로서 표현되는 것도 있었다. 제 II 형은 고도로 분화된 선암종의 선관구조의 기저막에서와 같은 표현양상을 보이는 것으로서 I 형과 II 형은 종양의 전반에 걸쳐 분포되어 있었다. III 형은 섬유성 간질조직이 풍부한 곳에서 반응을 보이는 것으로 종양조직의 배열상 크고 작은 종양소가 섬유성 띠로 둘러싸인 부위는 전부 III 형으로 표현되었다. 이상의 I, II 및 III 형의 기저막 당단백분포의 공통적인 소견은 종양조직의 세포외 기질의 분포와 일치하는 경향을 보인다는 것이다. 즉, 기저막 당단백이 출현하는 세포외 기질의 분포 양상에 일치하여 각기 다른 양상으로 간세포암의 성장이 이루어지게되며, 그 결과로 간세포암마다 서로 다른 조직학적 유형이 형성된다는 것이다. 정상 및 간경변성조직에

서도 동양구조를 따라 C-IV 및 FN이 출현하는 것으로 알려져있다^{20,49)}. 세포외기질에서 분포하는 위치로서 동양구조와 같이 조직내의 혈류순환계와 관련된 곳에서 침착하는 이유에 대해서 구체적으로 알려진 바는 없다. 그러나 간세포암에서 동양구조를 포함한 혈관성 간질조직에 기저막 당단백이 잘 표현되는 이유로서 Grigioni등은 보다 풍부한 혈관의 공급을 필요로 하는 암 조직의 기능적 요구에 대한 반응으로 해석하고 있다¹⁹⁾. 제 IV 형의 분포양상은 동양구조 또는 섬유성 간질과는 무관하게 개개의 종양세포 둘레에서 반응을 보이는 것으로서 III 형과 같이 종양의 제한된 부위에서만 관찰되었다. Stenman등에 의하면 제 IV 형과 같은 FN의 표현양상은 간엽성 조직의 병변에서만 표현되기 때문에 암종과 육종을 구분하는데 유용하다고 하였고⁵⁹⁾, 대장점막에서의 FN의 동태를 검색하였던 Scott등이 이와 유사한 분포유형을 언급하였을 뿐⁵⁵⁾, 간세포암에서 구체적으로 논의된 바는 없었다. 그러나 Jagirdar등은 제 IV 형으로 표현되는 간세포암은 고분화형, 특히 임상적으로 예후가 좋을 것으로 생각하였다²⁵⁾.

본 검색에서 유형별 분포양상은 대부분의 증례에서 어떤 독립된 하나의 유형만으로 표현되지 않았으며 극히 제한된 일부의 증례에서만 단일한 유형으로 표현될 뿐이었다. 이러한 점은 대부분의 간세포암이 서로다른 조직학적 유형을 공유한다는 현상과 유사하다. 또한 각 유형별 분포빈도에서 제 I 형이 가장 많으며 제 IV 형의 빈도순으로 나타나는 점도 색상형이 간세포암의 가장 기본적인 성장유형임을 단적으로 드러내고 있다. 그리고 간질분포와 일치하지않는 제 IV 형은 C-IV에 대해서는 2례, FN에 대해서는 5례에서 관찰되었다. IV 형의 분포양상과 조직학적 유형과의 상관성은 분명치 않으나 제 IV 형의 FN은 특히 색상형의 간세포암에서 흔히 표현되었고(5례중 3례) 경화형에서는 관찰되지 않았다.

이들 기저막 손상 또는 결손은 악성종양의 전이 및 국소침윤과 밀접히 연관되어 있고 이에 관해서는 많은 연구업적이 보고되어 왔다^{1,6,14,28,30,32,33,34,47,52,53}). 특히 FN의 세포의 이동 및 부착역할에 주안점을 두어 암화 과정 및 전이와의 관계에 대해서는 심도있게 논의되어 왔다. 즉, 종양의 발생과 전이과정에서 세포표면에 있는 FN의 소실 또는 감소가 있다는 점^{15,23,44,66}), 종양의 원발 부위에서 배양된 세포는 FN을 생성할 수 있으나 전이성 병소의 배양세포는 FN을 생성할 수 없다는 점⁵⁷), 암화된 배양세포를 FN으로 처리하면 정상세포로 형태학적 반전을 보인다는 점⁹), 침윤성 성장을 보이는 암종에서 FN이 소실되는 점³⁰) 등이 그것이다. 그러나 이들 기저막 당단백의 분포와 종양의 분화도와 상관계수에 관한 연구는 몇몇 암종에 국한되어 있을 뿐이다^{4,12,14,19,24,25}). 따라서 종양세포의 생물학적인 추이와 FN표현 동태와의 관련성은 분화도의 측면에서 충분히 고려해볼 만하다. 왜냐하면 종양조직의 분화도가 경우에 따라 예후판단의 기준이 될 수 있기 때문이다. 그러나 Foster등에 의하면 분화도가 높은 대장암은 낮은 것에 비해 laminin이 보다 흔히 표현되는 반면에 FN은 분화도와는 관련성이 없다고 한 바 있다¹⁴). 간세포암의 분화도와 기저막 당단백의 표현을 조사한 Grigioni등은 고분화형의 간세포암에서 C-IV이 보다 흔히 관찰된다고 하였다¹⁹). 이들에 의하면 동양구조 및 종양소 주변의 간질조직등에서 표현되는 C-IV의 출현정도는 종양의 분화도 뿐만 아니라 미세순환구조의 환경적 인자에 의해 좌우된다고 하였다. 이 가설적 주장은 미세순환구조의 이상을 동반하는 경변성 간조직에서 C-IV이 위소엽과 경변성 섬유성 경계부에서 잘 표현된다는 Hahn등의 보고와 그 궤를 같이하고 있다²⁰). 또한 Jagirdar에 의하면 FN의 출현은 임상적으로 비교적 예후가 좋은 것으로 알려진 encapsulated hepatocellular carcinoma^{40,41}), 담명세포형 간세포암³), fibrola-

mellar carcinoma^{8,18})등에서 흔히 나타나며, 이는 또한 분화도와 밀접히 연관되어 있다고 한다²⁵).

본 검색에서 Edmondson의 기준¹⁰)에 따라 grade I 과 II를 고분화형, III과 IV를 미분화형으로 분류하였는바, 종양의 전반에 걸쳐 고르게 분포된 I형 및 II형, 그리고 개개의 세포 둘레로 반응을 보이는 IV형은 고분화형에서 압도적으로 많이 분포하였고, 종양의 제한된 부위에서만 표현된 제III형은 분화도의 정도와는 뚜렷한 관계를 보이지 않았다. 이와같은 소견으로 기저막 당단백의 출현이 종양전반에 고르게 분포할 경우, 그 종양은 분화도가 높은 세포로 이루어져 있다는 것을 암시하게 된다.

간세포암의 세포학적 유형에 따른 기저막 당단백의 표현양상과의 상관계수에 대하여, 담명세포형 간세포암에서 FN이 보다 잘 출현한다는 보고²⁵)외에는 구체적으로 언급된 문헌은 접할 수 없었다. 본 검색에서도 세포학적 분류상 간세포형 간세포암이 92%를 차지하여 다른 유형의 간세포암과의 상관계수를 규명하기는 어려웠다.

C-IV와는 달리 FN은 간세포암의 암세포내에서도 관찰되었다. 보고자에 따라 그 출현 빈도는 20%에서 52.8%까지 다양하게 나타나며, 가검물의 종류에 따라서도 달리 보고되고 있다^{25,26}). 즉 생검 조직에서는 높은 빈도로 표현되나 부검 조직에서는 거의 표현되지 않는다고 한다. 그 이유는 세균의 단백질 분해작용에 기인되는 것으로 알려져 있다^{24,25,67}). 여기서 주목해야 할 것은 trypsin과 같은 단백질 분해효소를 면역조직화학적 염색과정에서 사용한 후에도 세포내에서 표현되었다는 점이다. 이와 같은 현상은, in vivo 상태의 정상 간세포에서 FN과 같은 기저막 당단백을 확인할 수 없다는 점과⁴⁶), 간세포암의 배양세포에서는 기저막 당단백을 생성할 수 있다는 점등에 비추어 in vivo 상태의 종양세포가 세포의 기질과 상호 작용하여 FN을 생성할 수 있다는 점^{46,51,57,60})을

조심스럽게 암시하고 있다. 본 검색에서도 전체 50례중 30례에서 세포내 FN이 관찰되었으며, 그 빈도는 60%였다. 또한 그 출현 위치는 크게 2가지 유형으로, 종양조직내 산발적으로 나타나는 경우와 종양의 동양구조에 접한 쪽의 종양세포를 따라 선상으로 나타나는 경우가 그것이다. 총 30례 중에서 간질과 접해 표현되는 경우가 12례, 산발적으로 표현되는 경우가 15례, 이들이 혼합된 경우가 3례였다. 특히 기저막 당단백의 침착이 세포외 기질에서 이루어지는 점에 비추어 간질과 접해서 표현되는 경우를 간세포암의 조직학적 및 세포학적 유형, 그리고 분화도와 상관계수에 대해서 고찰해 볼 필요가 있다. 여기서 분명한 것은 grade가 낮은 고분화형에서 더 높은 빈도로, grade가 높은 미분화형에서는 더 낮은 빈도로 나타나는 경향이 있다는 것이다. 흥미로운 점은 담명세포로 구성된 2례 전부에서 간질조직에 접한 세포내에서 FN이 관찰되었으며, 그외의 형태학적 유형과의 뚜렷한 상관성은 찾아볼 수 없었다. 따라서 세포내 FN의 출현의 의의에 대해서는 보다 심도 있는 연구 검색으로 밝혀져야 할 것으로 생각된다.

결 론

간세포암의 발생이 서구인에 비해 현저하게 높은 우리나라에서 간세포암의 병리발생과 관련된 임상-병리학적 업적은 많이 있으나, 간세포암 조직에서 기저막 당단백의 분포에 관한 업적은 거의 접하기 힘들었다. 이에 저자는 정상적으로 기저막이 없는 간 실질에서 발생한 원발성 간세포암 50례에 대한 면역조직화학적방법(모노클로날 항체를 사용한 ABC법)으로 기저막 당단백인 C-IV와 FN의 출현과 그 표현양상을 조사하고, 아울러 이를 간세포암의 조직학적 및 세포학적 유형, 그리고 분화도와 상관계수를 검색하였다. 그 결과를 요약하면,

1) C-IV와 FN은 세포외 기질에서 양성

반응을 보였으며, 이들의 분포 양상은 4가지 유형, 즉, 제 I 형(동양형), 제 II 형(선방형), 제 III 형(간질형), 제 IV 형(세포주변형)으로 분류할 수 있다.

2) 제 I 형과 제 II 형은 종양의 전반에 걸쳐 분포하고 있으며, III 형과 IV 형은 종양의 일부에서 표현되었다. 이와 같은 소견으로 간세포암에서 기저막 당단백의 표현은 간세포암의 조직학적 유형에 따른 세포외 기질의 분포에 일치하는 경향을 보여 주었다.

3) 제 I, II 및 IV 형은 미분화형 간세포암에서 보다 고분화형 간세포암에서 현저히 높은 빈도로 관찰되며, 제 III 형은 제 I, II 및 III 형에서 처럼 고분화형에서 현저히 표현되지는 않았다. 이러한 소견은 제 I 형과 II 형이 종양의 전반에 걸쳐 분포되어 있는 점과 함께 고분화형의 간세포암에서 세포외 기질에 기저막 당단백의 침착이 증가된다는 것을 암시한다.

4) 30례(60%)에서 세포내 FN이 관찰되었으며, 이는 산발적으로 분포되기도 하나 세포외 간질조직에 접한 세포군집에서 출현하는 특성을 보였다. 세포외 간질조직에 접한 세포내 FN 양성례들은 고분화형 간세포암에서 분포하는 경향을 보였고, 특히 담명세포로 구성된 간세포암 전례에서 관찰되었으나 그 의의에 대해서는 앞으로의 연구가 필요할 것으로 사료된다.

REFERENCES

1. Barsky SH, Siegal G, Jannotta F, Loitta LA : Loss of basement membrane components by invasive tumors but not by their benign counterparts. Lab invest 49 : 140-148, 1983
2. Bianchi FB, Biagni G, Ballardini G, et al : Basement membrane production by hepatocytes in chronic liver disease. Hepatology : 4 : 1167-1172, 1984
3. Buchanan TF, Huvos AG, Clear-cell

- carcinoma of the liver(a clinicopathologic study of 13 patients). *Am J Clin Pathol* : 61 : 529-539, 1974
4. Burtin P et al : Antigens of basement membrane and the peritumoral stroma in human colonic adenocarcinomas : an immunofluorescence study : *Int J Cancer* : 30, 13-20, 1982
5. Carlin B, Jaffe R, Bender B, Chung AE : Entactin, A novel basal lamina-associated sulfated glycoprotein. *J Biol Chem* : 256 : 5209-5218, 1981
6. Charpin C et al : Immunohistochemical detection of laminin in 98 human breast carcinomas : a light and electron microscopic study : *Human Pathol* : 17 (4) : 355-365, 1986
7. Chen LB, Burridge K, Murray A, Walsh ML, Copple CD, Bushnell A : Modulation of cell surface glycocalyx : studies on large, external, transformation-sensitive protein : *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 312 : 381, 1978
8. Craig JR, Peters RL, Edmondson HA, Omata M : Fibrolamellar carcinoma of the liver : A tumor of adolescence and young adults with distinctive clinicopathologic features : *Cancer* : 46 : 372-379, 1980
9. D'Ardenne AJ, McGee JO'D : Fibronectin in disease, *J Pathol* : 142 : 235-251, 1984
10. Edmondson HA : Tumors of the liver and intrahepatic bile ducts. Section 7, Fascicle 25, Washington, DC : Armed Forces of Institute of Pathology, 1958
11. Foidart JM, Bere EW, Yaar M, Rennard SI, Gulino M, Martin GR, and Katz SI : Distribution and immunoelectron microscopic localization of laminin, a non-collagenous BM glycoprotein : *Lab Invest*, 42, 336-342, 1980
12. Foidart JM, Reddi AH, Immunofluorescent localization of type IV collagen and laminin during enchondral bone differentiation and regulation by pituitary growth hormone, *Dev Biol*, 75 : 130-136, 1980
13. Foidart JM, Yaar M : Type IV collagen, laminin and fibronectin at the dermoepidermal junction. In : M. Prunieras(ed), *Frontiers of matrix biology. Epidermal keratocytes differentiation and fibrillogenesis.* vol 9. 175-188, Karger, Basel, 1981
14. Foster SJ, Talbot IC, Cirtchley DR : Laminin and fibronectin in rectal adenocarcinoma : Relationship to tumor grade, stage and metastasis, *Br J Cancer*, 50, 51-61, 1984
15. Glanville Rw, Rauter A, Fietzek PP : Isolation and characterization of a native placental basement membrane collagen and its component alpha chains. *Eu J Biochemistry*, 95, 383-389, 1979
16. Gibson JB, Sobin LH : International histological classification of tumors No. 20 : Histological types of tumors of the liver biliary tract and pancreas. *Zenova. WHO*, 19-25, 1978
17. Glassgow JE, Colman RW : Fibronectin synthesized by a human hepatoma cell line. *Cancer Res.* 44 : 3022-3028, 1984
18. Goodman ZD, Ishak KG : Hepatocellular carcinoma in women : probable lack of etiologic association with oral contraceptive steroids. *Hepatology* 2 : 440-444, 1982
19. Grigioni WF et al : Hepatocellular carcinoma : Expression of basement me-

- membrane glycoproteins. An immunohistochemical approach. *J Pathol* 152 : 325-332, 1987
20. Hahn E, Wick G, Pencev D, Timpl R : Distribution of basement proteins in normal and fibrotic human liver : collagen type IV, laminin and fibronectin. *Gut* 21 : 63-71, 1980
21. Hogan BLM : High molecular weight extracellular proteins synthesized by enderm cells derived from mouse teratocarcinoma cells and normal extraembryonic membranes. *Dev Biol*. 76 : 275-281. 1980
22. Hsu SM, Raine L, Fanger H : The use of antiavidin antibody complex on immunoperoxidase technics. *Am J Clin Path*. 75 : 816-821. 1981
23. Hynes RO : Alteration of cell-surface proteins by viral transformation and by proteolysis PNAC. USA 70 : 3170-3174, 1973
24. Isemura M, Yoshizawa Z et al : Fibronectin in human hepatocellular carcinoma. *Tohoku J Exp Med*. 138 : 441-442, 1982
25. Jagirdar J et al : Fibronectin patterns in hepatocellular carcinoma and its clinical significance. *Cancer* 56 : 1643-1648. 1985
26. Kefalides NA : Structure and biosynthesis of basement membranes. *International review of connective reserch*. 6. 63-104, 1973
27. Kefalides NS et al : Biochemistry and metaboilism of basement membranes. *Int Rev Cytol*. 61 : 167-180, 1979
28. Kleinman JK et al : Role of collagenous matrices in the adhesion and growth of cells. *J Cel Biol* 88 : 473, 1981
29. Kojima N et al : Distribution of fibronectin in fibrotic human livers in various sates. *Tohoku J Exp Med* 125 : 403-412, 1981
30. Labat-Robert et al : Loss of fibronectin in human breast cancer. *Cell Biol Int Rep* 4 : 609-616. 1980
31. Latry P et al : Perisinusoidal fibrosis and basement membrane-like material in the livers of dibetic patients. *Hum Path* 18(8) : 775-780. 1978
32. Liotta LA et al : Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement collagen. *Nature* 284(6) : 67-68, 1980
33. Liotta LA et al : Tumor invasion and the extracelular matrix : *Lab Invest* 49 : 636-649, 1983
34. Liotta LA : Tumor invasion and metastases. Role of the basement membranes. *A J Pathol* 117 : 339-347. 1984
35. Medri JA et al : Isolation and tissue localization of type ABE collagen from lung parenchyma. *A J Pathol* 94 : 322-332, 1979
36. Martinez-Hernandez A, Amnenta PS : The basement membrane in pathology. *Lab Invest* 48 : 656-680. 1983
37. Matsuura H, Hakomir S : The oncofetal domain of fibronectin defined by monoclonal antibody FDC-6 : Its presence in fibronectins from fetal and tumor tissues and its absence in those from normal adult tissue and plasma. *PNAS. USA*. 82 : 6517-6521, 1985
38. Mauro A et al : Collagenase in the immunohistochemical demonstration of laminin, foibronectin and factor VIII/

- RAg in the nervous tissue after fixation. *Histochemistry* 80 V 1576 VIII 163, 1984
39. McLean IW, Nakane PK : Peridate-lysine-paraformaldehyde fixative : a new fixative for immunoelectron microscopy. *J Histochem Cytochem* 22 : 1077-1083, 1984
40. Mosesson MW et al : The structure and biologic activities of plasma fibronectin. *Blood* 56 : 145-158, 1980
41. Mosher DF : Physiology of fibronectin. *Ann Rev Med* 35 : 56-575, 1984
42. Nelson G, Ordonez et al : Effect of trypsinization on the immunostaining of formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Am J Surg Path* 12(2) : 121-129, 1988
43. Okuda K et al : Gross anatomic features of hepatocellular carcinomas from three disparate geographic areas. *Cancer* 54 : 2165-2173, 1984
44. Olden K, Yamada KM : Mechanism of the decrease in the major cell surface protein of chick embryo fibroblasts after transformation. *Cell* 11 : 957-965, 1977
45. Orkin RW et al : A murine tumor producing matrix of basement membrane. *J Exp Med* 145 : 204-220, 1977
46. Owens MR, Cimino CD : Synthesis of fibronectin by the isolated perfused rat liver. *Blood* 59 : 1305-1309, 1982
47. Ozzello L : The behavior of basement membranes in intraductal carcinoma of the breast, *Am J Path* 35 : 887-891, 1959
48. Robert-Labet J et al : Modification of fibronectin distribution pattern in solid human tumors. *Diag Histopath* 4 : 299, 1981
49. Rojkind M et al : Collagen types in normal and cirrhotic liver. *Gastroenterol* 76 : 710-719, 1979.
50. Rudolph T et al : Contractile fibroblasts in chronic alcoholic cirrhosis. *Gastroenterol* 76 : 704-709, 1979
51. Ruoslahti E et al : Fibronectin : current concepts of its structure and functions. *Col Rel Res* 1 : 95-128, 1981
52. Ruoslahti E : Cell matrix interactions in development and neoplasia. *Oncodev Biol Med* 2 : 295-303, 1981
53. Sakr WA et al : Distribution of basement membrane in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Hum Path* 18(10) : 1043-1050, 1987
54. Schaffner F et al : Capillarization of hepatic sinusoids in man. *Gastroenterol* 44 : 239-242, 1963
55. Scott DL et al : Distribution of fibronectin in the rectal mucosa. *J Clin Path* 34 : 749-758, 1981
56. Siehal GP et al : States of neoplastic transformation of human breast tissue as monitored by dissolution of basement membrane components. *Invasion Met Astl* : 54-65, 1981
57. Smith HS et al : Production of fibronectin by human epithelial cells in culture. *Cancer Res* 39 : 4138-4144, 1979
58. Stenman S et al : Distribution of major connective tissue protein, fibronectin, in normal human tissues. *J Exp Med* 147 : 1054-1064, 1978
59. Stenman S et al : Fibronectin in solid human tumors. *Int j Cancer* 27 : 427-435, 1981
60. Tamkun JW et al : Plasma fibronectin

- is synthesized and secreted by hepatocytes. *J Biol Chem* 258 : 4641-4647, 1983
61. Thorgeirsson UP et al : Protein synthesis but DNA synthesis is required for tumor cell invasion in vitro. *Inv Metast* 4 : 73-84, 1984
62. Timpl R et al : Nature of collagenous protein in a tumor basement membrane. *Eurp J Biochem* 84 : 43-52, 1978
63. Timpl R et al : Laminin, a glycoprotein from basement membranes. *J Biol Chem*, 254 : 9933-9937, 1979
64. Timpl T et al : Immunohistochemical study on basement membrane (type IV) collagens. *Immunol* 38 : 109-116, 1979b.
65. Tsumagari J : Fibronectin in hepatocellular carcinoma and HCC cell lines. *Acta Pathol Jpn* 37(3) : 413-423, 1987
66. Vaheri A et al : Disappearance of a major cell type-specific surface glycoprotein antigens after transformation of fibroblasts by Rous sarcoma virus. *Int J Cancer* 13 : 579-586, 1974
67. Vracko R : Basal lamina scaffold-anatomy and significance for maintenance of orderly tissue structure. *Am J Path* 77 : 314-338, 1974
-

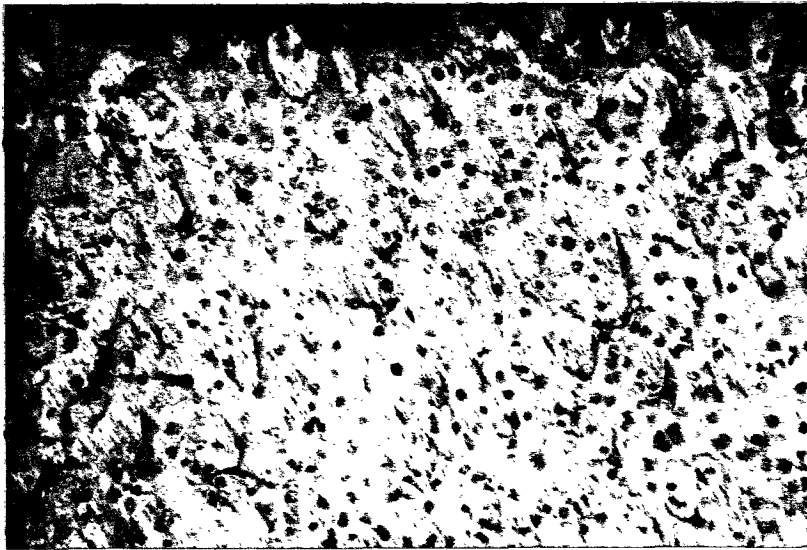


Fig. 1. Reaction to type IV collagen in normal liver, disclosing linear expression along the sinusoidal structure.

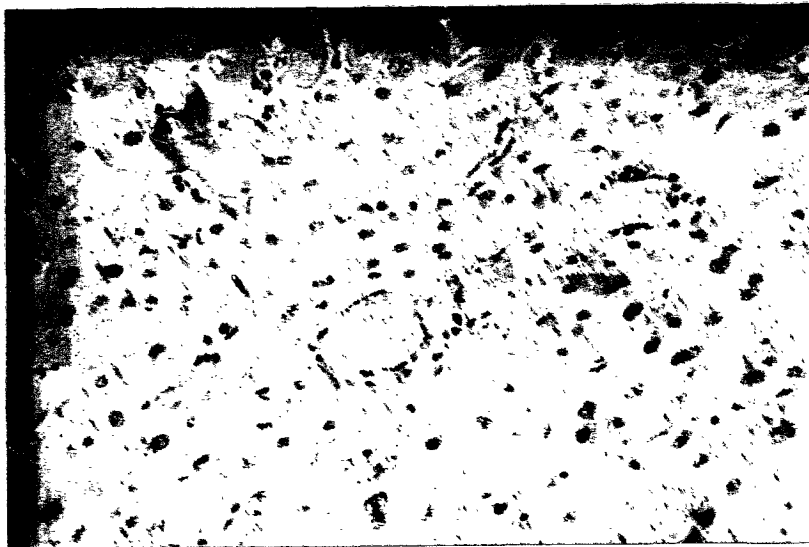


Fig. 2. Reaction to fibronectin in normal liver, showing delicate, linear, weak expression along the sinusoidal structure, which extend to the wall of a central vein.



Fig. 3. Reaction to fibronectin in cirrhotic liver showing weakly positive expression in the fibrotic septa.

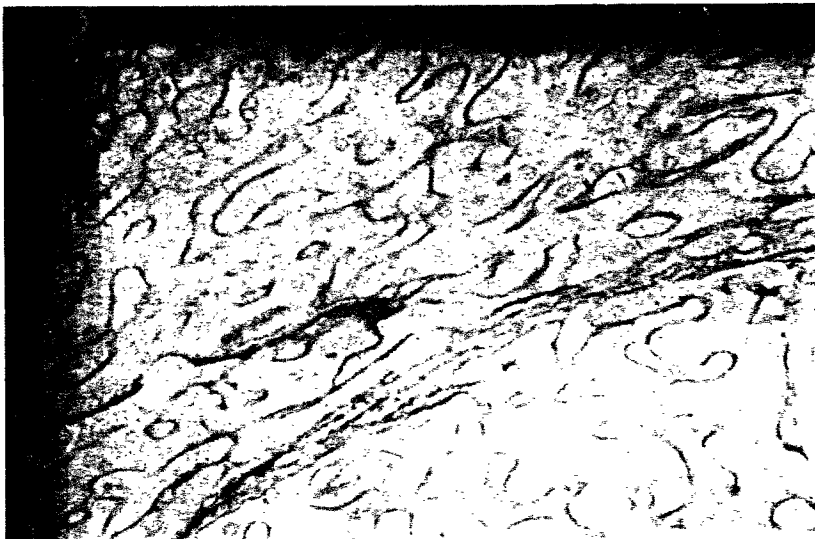


Fig. 4. Cirrhotic liver tissue showing positive reaction to type IV collagen in sinusoidal surface within pseudolobules and fibrous bands.

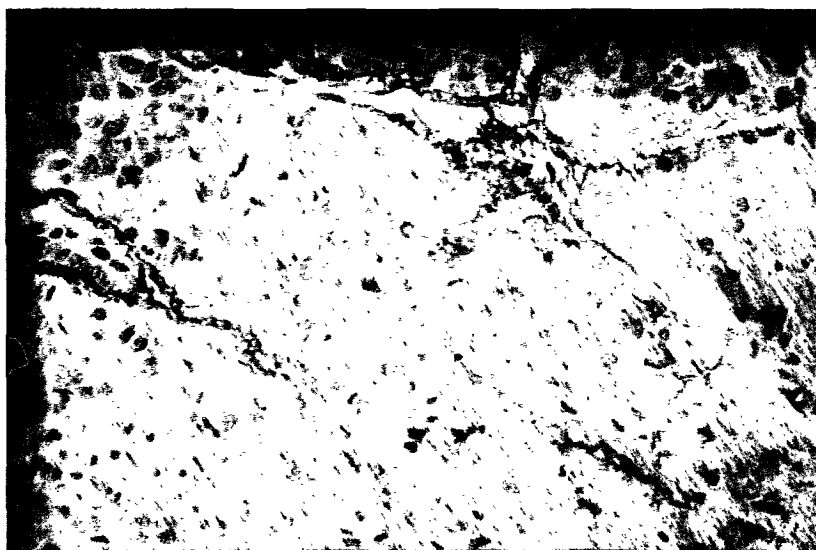


Fig. 5. Pattern I of type IV collagen in hepatocellular carcinoma, characterized by thick or thin, linear strands surrounding the trabecular structures of the tumor tissues.

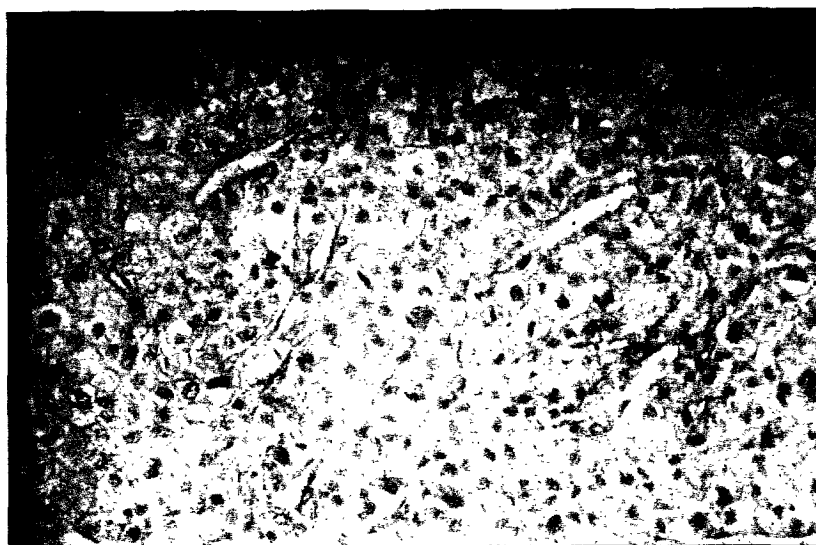


Fig. 6. Pattern I of fibronectin expression showing thin linear strands along the perisinusoidal surface.



Fig. 7. Pattern II of type IV collagen, characterized by circular strands surrounding tumor nests, which resembles the basement membrane structure of well-differentiated adenocarcinoma. Pattern III is also noted in the right upper portion

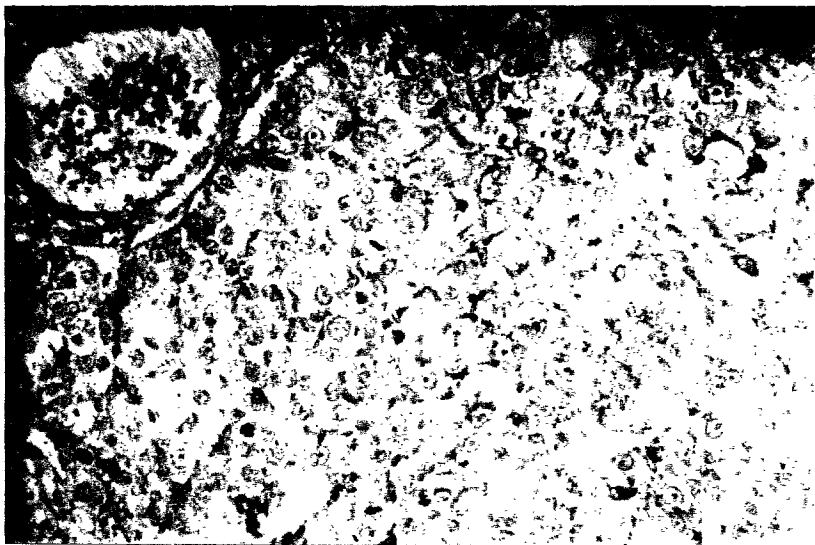


Fig. 8. Pattern IV of fibronectin, which is observed in focal areas of tumor tissue.

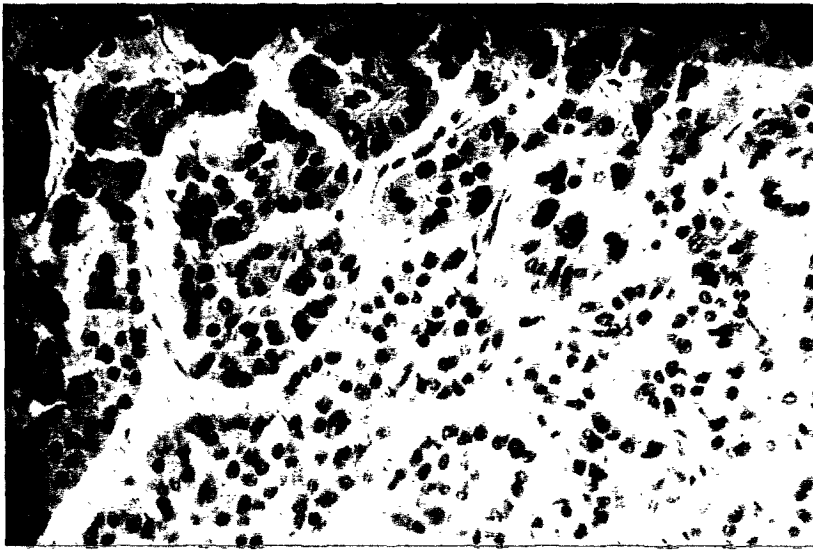


Fig. 9. Well-differentiated hepatocellular carcinomas composed of relatively less anaplastic tumor cells resembling normal hepatocytes, which is arranged in trabeculo-acinar pattern (H-E, X100).

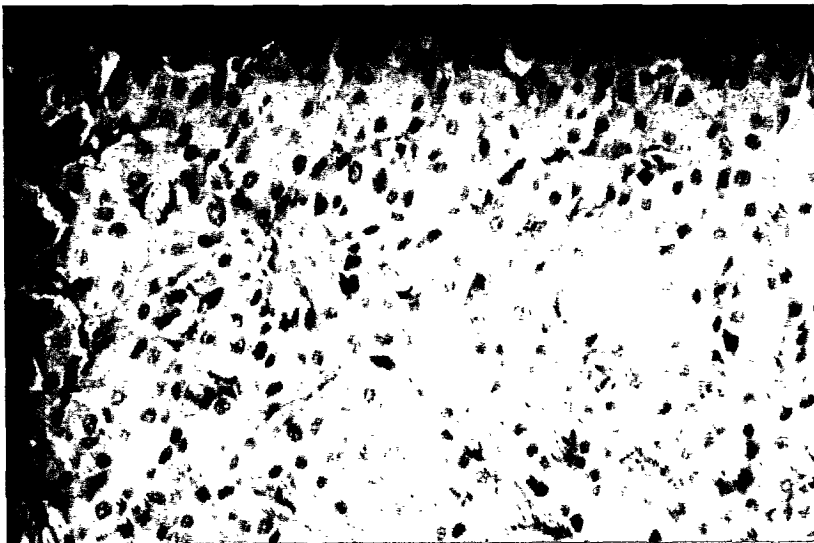


Fig. 10. Reaction to fibronectin in well differentiated HCC(Fig 8) showing Pattern I and/or II throughout the tumor tissue.

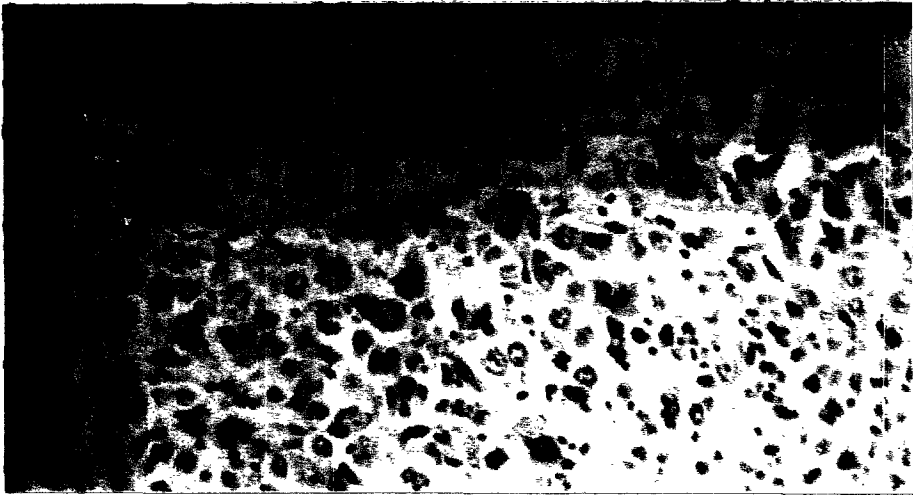


Fig. 11. Poorly differentiated hepatocellular carcinoma composed of highly anaplastic tumor cells arranged in diffuse sheets (H-E, X100).



Fig. 12. Reaction to type IV collagen in poorly differentiated HCC (Fig 10) discloses Pattern III, which is confined focal fibrous stroma.

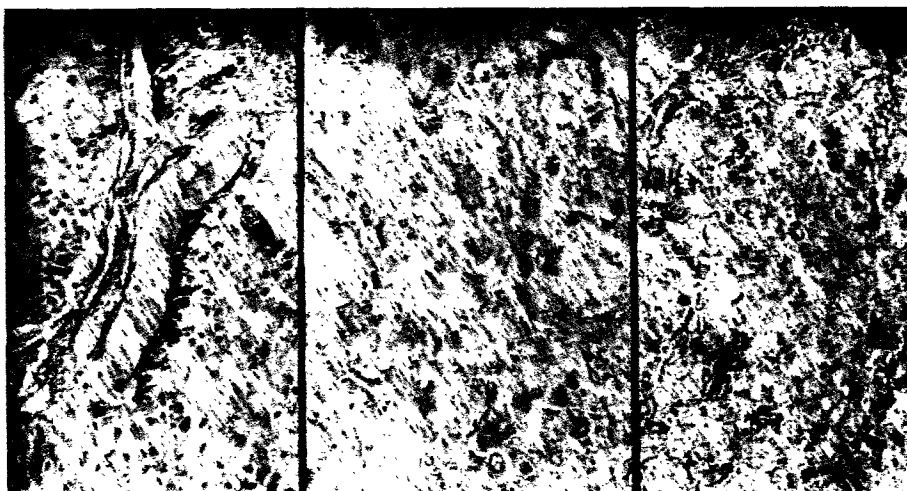


Fig. 13. Demonstration of three patterns of intracellular fibronectin : The left is stromal interface pattern characteristically showing cytoplasmic activity in proximity to adjacent interstitial stromal tissue. The center is scattered pattern showing perinuclear granular immunostaining in some tumor cells. The right is mixed pattern.