

유방 생검 검체의 취급

공 경 업

울산의대 서울아산병원 병리과

검체의 적절한 처리

유방은 표재성 장기이기 때문에 병변이 쉽게 만져지므로 병리의사 또는 임상 의사에 의해 세침흡인검사 또는 조직검사 등이 이루어 지는 경우가 많았다. 그러나, 최근 들어 screening mammography 이용의 증가로 촉진되지 않는 병변이 늘고 있으며 이에 대한 조직 검사의 일환으로 초음파 유도하 세침흡인, 침생검, 초음파 유도하 위치결정술에 따른 수술적 생검으로 나누어 볼 수 있는데, 조직검사 유형별로 검체 다루는 수기에 대해 기술하고자 한다. 때로 이들 검체의 처리과정이 부적절하여 검체 판독이 어려운 경우가 종종 있어 힘들게 얻은 검체가 적절하게 도말되고 처리되어 병리과로 전달될 수 있도록 검체 처리 과정을 기술하였다.

1. US-guided fine needle aspiration

1) 도말 시기

도말 과정의 목적은 잘 보존된 세포나 작은 조직 파편들을 슬라이드 위에 적절하게 분배하는 것이다. 몇 가지 방법의 도말 시기 대하여 설명하고자 한다. 각각에는 장단점이 있으며 각기 다른 artifact가 있을 수 있다. 도말 방법의 결정은 기호의 문제이지만, 기술자들은 여러 방법을 쓰는 것 보다 한 방법을 쓰는 것이 보통이다. 검체물은 대개 “dry aspirate 또는 wet aspirate” 두 가지 범주에 든다. “Dry aspirate”이 나오면 one step method로 하고 “wet aspirate”이 나오면 액체의 양이나 종류에 따라 two step method로 하면 된다.

1. 1단계법 (One-step technique)

기본적인 1단계법은 반고형성 고형물을 1-2방울 얻었을 때 하는 방법이다. 소량의 혈액이 포함될 수도 있다. 슬라이드를 집어서 frosted end가 왼 손의 엄지와 검지

사이에 오도록 놓고, 다른 세 손가락은 슬라이드 아래에 놓고 슬라이드를 지지한다. 오른손에 새 슬라이드를 한 장 쥐고 흡인물에 45-90도 각도로 가까이 세워서 댄다. 세운 슬라이드의 위쪽 끝을 아래로 내려서 흡인물을 덮게끔 해서 오른손에 쥐고 있는 슬라이드를 회전시키는 기분으로 아래로 부드럽게 민다. 움직임은 부드럽고 빨라야 하나 서두르지 말아야 한다. 두 슬라이드의 평행을 유지하는 것이 중요하며 아래 슬라이드를 긁는 방식은 피해야 한다. 도말 슬라이드가 완성되면 즉시 고정해야 한다. 고정을 할 때 조금이라도 지체가 되면 air-drying artifact가 생긴다. 흡인물이 많을 때나 특수염색이 필요한 경우 여러 장의 슬라이드를 만들 수 있도록 검체물을 나눌 수 있다.

2. 혈액이나 액체에 의해 희석된 검체물의 도말 방법

너무 많은 액체 흔히 혈액에 의해 흡인물이 희석될 수 있는데, 이것이 도말을 어렵게 하는 가장 흔한 원인 중 하나이다. 이런 경우, 도말 방법이 몇 가지가 있다. 도말 전에 조직 파편과 액체를 분리하는 것이 중요한데, 두 가지 방법이 있다.

첫째 방법은 다음과 같다. 여러 슬라이드에 흡인물을 뿌려놓은 뒤 가장 많이 조직 파편을 포함하고 있는 슬라이드를 선택한다. 그 슬라이드를 집어서 액체가 아래로 흐르도록 기울인다. 슬라이드 중심부에 남아있는 조직 파편을 다른 슬라이드의 끝으로 걷어내서 또 다른 슬라이드 위에 놓고 민다.

두 번째 방법은 이단계 (two step)법 인데 다음과 같다. 앞에 방법과 마찬가지로, 가장 좋은 슬라이드를 선택하여 왼 손으로 frosted end를 잡아서 frosted end 쪽으로 기울인다. 액체만 흘러내리고, 조직파편만 남게 되면 새 슬라이드를 옆으로 세워서 frosted end 쪽으로 검체물을 밀었다가 다시 반대편으로 와서 슬라이드의 중심부에서 멈추고 위쪽 슬라이드를 떼어낸 후, 아래쪽 슬라이드

라이드를 frosted end 쪽으로 다시 기울여서 액체를 흘려보낸다. 슬라이드 중심부에 모여있는 조직 파편들을 새 슬라이드를 가지고 일단계법으로 도말 하면 된다.

액체가 너무 많을 경우에는 거즈로 액체를 흡수시킨 후 도말을 하는 것도 한 방법이다.

2) 흡인물의 고정 및 염색법

가장 흔히 사용되는 염색법은 Papanicolaou, Hematoxylin - Eosin 및 Romanowsky형 염색인데 이 중에는 May - Gruenwald - Giemsa, Wright - Giemsa 및 Diff - Quik 염색법 등이 있다.

Pap 염색을 하기 위해서는 검체물을 재빨리 고정시켜야 한다. 95% ethanol을 고정액으로 가장 흔히 사용한다. 70 - 95% methanol도 사용이 가능하다. Romanowsky 염색을 위한 도말은 염색과정 전에 실온에서 잘 말려야 한다. Romanowsky 염색 중에는 MGG 및 Diff - Quik 염색이 좋다.

환자를 보내기 전에 검체물의 질을 평가할 수 있는 빠른 염색법이 필요하다. Pap, H - E, Diff - Quik 및 MGG의 통상 방법을 약간씩 변형시키면 모든 것이 가능하다.

특수 염색을 위한 준비

흡인물을 이용해서 여러 가지의 특수 염색을 할 수 있다. Cell block을 이용해서도 할 수 있으며, cytospin에 검체물을 돌려서 할 수도 있다. 어떠한 방법을 쓰더라도 많은 수의 슬라이드를 만들 수 있는 것이 좋다.

3) 기타 흡인물 처리법

Cell Blocks

검체물을 처리하는데 있어서, 나온 조직의 큰 파편이 흡인물로부터 제거될 수도 있고 고정액에 넣어서 cell block을 만들 수도 있다. 파라핀 또는 플라스틱 포매가 이용될 수 있다. 이런 처리법이 때때로 도말에서 관찰되지 않는 구조들을 잘 관찰할 수 있다. 또한 cell block은 다른 특수 염색이나 면역 세포화학 검사에 이용할 수 있는 장점이 있다.

2. US-guided core needle biopsy/ Mammotome biopsy

침 생검은 가늘고 긴 조직이거나 작고 둥근 여러 개의 조직이므로 길이와 두께를 정확히 재고, 조직이 반듯하게 고정이 되도록 종이에 부착시켜 10% 중성 포르말린에 고정한다.

3. US-guided localization excision

1970대 중반까지 모든 유방생검은 비정상적으로 촉진되는 병변만을 대상으로 하였으며, 생검된 조직은 거의 항상 직경 1cm 이상이었다. 이것은 진단에 충분한 양이었고, 다른 연구를 하기에도 충분하였다.

현재 많은 생검들이 임상적으로는 정상이나 유방 촬영에서 이상소견이 있을 때 시행되는데, 유방 촬영에서 이상소견이란 석회화와 비정상적인 방사선 음영이다. 석회화는 생검조직의 육안소견에서 이상소견과 함께 동반될 때도 있고, 그렇지 않을 때도 있다.

유방생검의 목표는 정확한 진단이기 때문에 확실한 침윤성 암이 진단될 때까지 다른 연구에 조직을 사용하지 않음을 원칙으로 한다. 동결 절편은 항상 필요한 것은 아니며 때로 해서는 안 될 때도 있다. 특히 육안 병변이 1 cm 미만으로 작을 때 동결 절편으로 정확한 진단이 안 될 때가 있고, 동결 절편의 인공 산물의 결과로 영구 절편을 제작하였을 때 진단이 부적절하거나 심지어 진단에 무용지물이 되는 경우도 있다. 얼리지 않았던 조직이 진단을 위한 최적의 상태를 유지 될 수 있고, 또 신선 조직을 필요로 했던 많은 연구들이 고정된 조직에서도 시행되기 때문에 동결 절편의 필요성이 감소되는 추세이다.

병리과에 조직이 도착될 때까지 조직이 잘려서는 안 되고, 조직의 절제면은 잉크를 칠해서 절제면에 암이 있는지 확인한다. 자르지 않은 조직으로 바늘의 위치 확인도 할 수 있는 경우가 있다.

1) 육안적으로 병변이 보이는 경우

유방촬영에서 확인된 병변이 1.0cm 미만인 경우 절대로 동결절편 검사를 시행하지 않는 것을 원칙으로 한다. 유방생검은 정확한 진단을 위한 것이기 때문에 다른 검사 (예, ER, PR)들은 부수적으로 시행되어야 된다. 조직의 절개로 인해 현미경검사를 위한 조직의 손실도 초래되지만, 주변조직의 형태가 변형되기도 하고, 이로 인해 침윤성암과 반흔 또는 선 증식증 등의 육안적으로 구별이 되지 않는 병변의 감별에 방해가 될 수도 있기 때문이다.

작은 병변이 침윤성암으로 확인되면, 종양의 등급과 호르몬 수용체의 양성정도가 서로 비례하는 점을 고려하여, 종양의 등급을 정하고, 고정된 조직으로 호르몬 수용체에 대한 면역조직화학 염색을 시행한다.

동결절편이 시행결과 진단에서 관상피내암(intraductal carcinoma)이 의심되면, 특수 연구를 해서는 안 된

다. 모든 조직은 영구 절편제작에 사용하는 것을 원칙으로한다.

2) 석회화 병변의 취급 방법

석회화 때문에 제거된 조직은 반드시 석회화 병변이 절제되었는지 확인하기 위하여 조직을 방사선으로 검사하여야 된다. 생검조직은 수술 전 유방촬영 소견과 비교하기 위하여 손상시키지 않아야 한다. 조직을 가능한 얇게 절편으로 자르고, 암으로 의심되는 병변이 없으면, 동결 절편 제작을 시행하지 않는다.

일단 석회화된 병변이 확인되면, 병리의사는 따로 이 름표를 만들어 석회화된 부분의 절편을 제작하여 유리 슬라이드에서 칼슘을 확인하다. 칼슘이 확인되지 않으면, 그 블록을 방사선으로 검사하여 더 깊은 부분에 칼슘이 있는지 확인하고, 남은 조직이 있으면, 역시 방사선으로 검사하여 석회화된 부분이 절편 제작에 포함되지 않고 남아 있는 것을 확인한다.

유방 촬영술로 확인된 석회화가 H&E 염색에서 확인되는 것은 hydroxyapatite 이고 calcium oxalate crystal은 잘 보이지 않는다. 이러한 것은 편광현미경으로 검사하거나 pH 7.0에서 alizarin red S 로 염색하여 관찰한다.

드물게 칼슘이 확인되지 않는 경우가 있는데, 이러한 것은 낮은 pH에서 조직이 고정되어, 칼슘이 떨어져 나가거나, 기계적 손상으로 절편 제작 과정에서 없어지거나 아니면 확인되지 않는 다른 원인으로 인해 발생할 수 있다.

4. Mammographic Localization Biopsy for Ductal Carcinoma In Situ: A Simple Mapping Technique for Sampling and Size Estimation By Usha Raju, MD

Localization biopsy를 행하는 이유 중에 하나가 암의 유무를 확인하는 것이고, 암일 경우 진행 정도에 따라 앞으로의 치료 및 예후를 결정하게 되는데 결국 주로 문제가 되는 것이 관상피내암종이다. 특히 관상피내암종의 크기 결정이 최근에 많이 시행되고 있는 conserving operation과 후속되는 방사선 치료 여부를 결정하는 주요 인자가 되므로 병리의사는 이에 대한 보고를 명확히 해야 할 의무가 있다. 특히 mammography 만으로 크기를 측정했을 때 1 - 2 cm 정도 작게 보고되는 경우가 종종 있기 때문에 이에 대한 확인에 있어서는 병리의사의 책임이 무겁다고 할 수 있다. Localization

biopsies를 다루는 방법에 대해서 Schnitt와 Connolly 등이 제안한 방법이 있으나 이 방법은 시간이 많이 소요되어 한국 현실에 도입하기는 어렵다고 생각되며, 최근 Raju가 보고한 방법이 비교적 간단하여 도입이 용이하여 본 병원에서 시행하고 있으므로 이 방법을 간단히 소개하고자 한다.

Protocol for Biopsy Evaluation and Sampling

1. The specimen radiograph is reviewed to note the location and extent of calcifications (Fig. 1a).
2. The specimen is oriented according to the specimen radiograph and inked with one or more colors to identify different surfaces if indicated (Fig. 1b). The specimen is fixed intact in buffered formalin at least for a few hours prior to sectioning.
3. A diagram of the specimen is drawn freehand or by tracing it off of the film over a lighted box. The wire and the marker needle placed by the radiologist and any orientation sutures placed by the surgeon are also included in the drawing.
4. The specimen is serially sectioned with attention to the area of the marker needle (Fig. 1c).

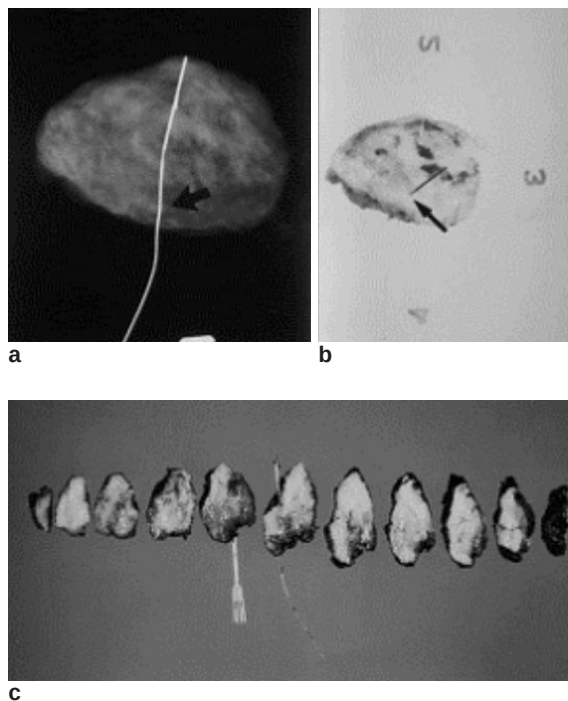


Fig. 1.

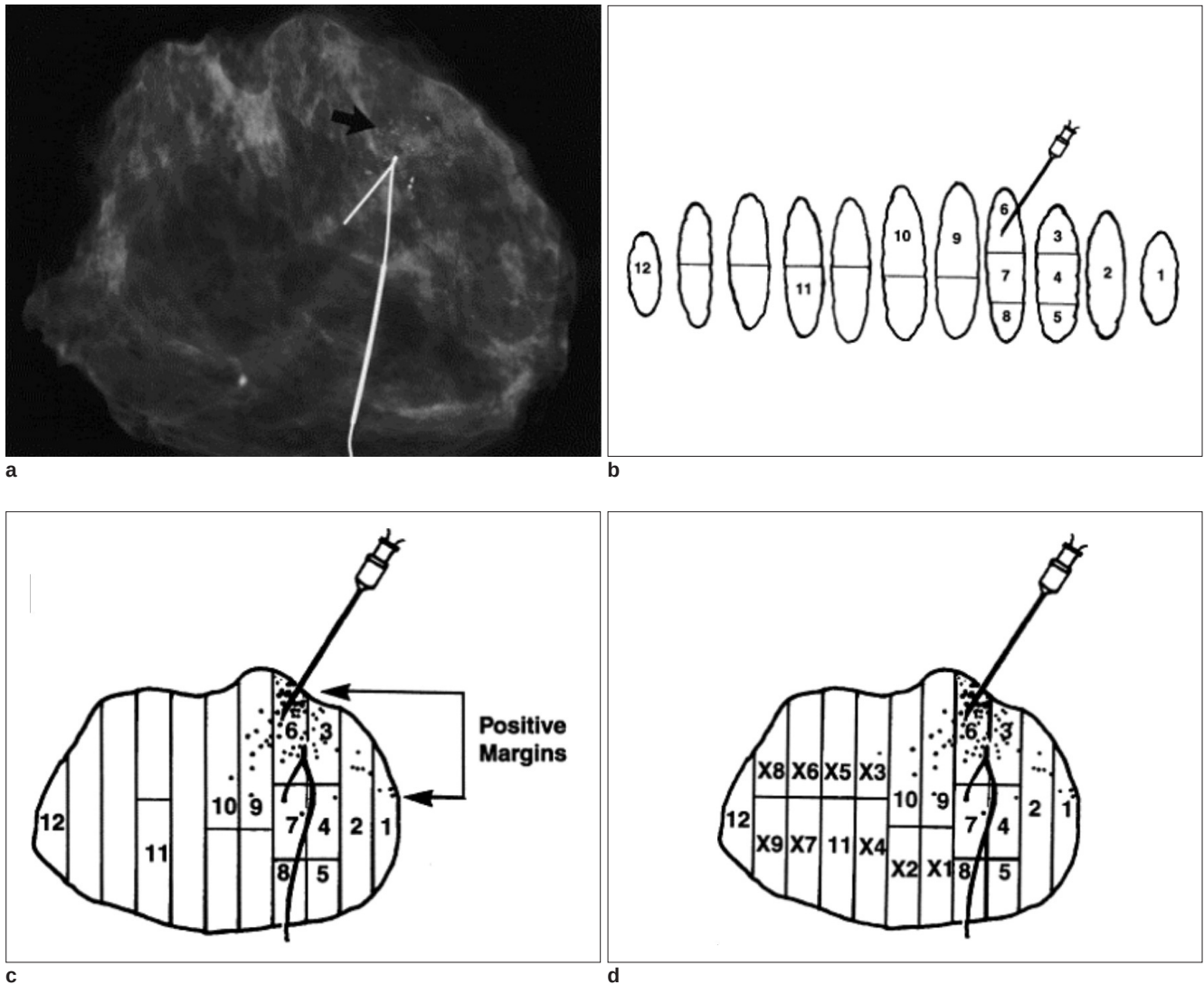


Fig. 2.

5. Sampling:

Small biopsies: Sequential sections of the entire tissue are submitted, up to 10 blocks. Sections are recorded on the diagram. Alternate surfaces are marked or placed face down to be cut sequentially. A section key is included in the report specifying the sections representing the needle - marked area.

Larger biopsies: The sections include the entire area of calcifications and at least one block each of immediately adjacent tissue without apparent calci-

fications, both ends of the biopsy, and intervening tissue sampled at regular intervals (Fig. 2a,b). The sections are recorded in the gross description and on the diagram. Orientation is maintained on the remainder of the tissue slices saved.

6. The size of the DCIS is estimated after microscopic review, correlating with the? specimen radiograph, diagram, and the size of the biopsy (Fig. 2c,d).