

간내담석증 및 병발된 담관암종으로 절제된 간 조직내 주담관 상피의 증식세포핵항원 발현

이시내 · 성순희 · 한운섭

이화여자대학교 의과대학 병리학교실

접 수 : 2002년 4월 27일
게재승인 : 2002년 7월 29일

책임저자 : 한 운 섭
우 158-710 서울시 양천구 목6동 911-1
이화여자대학교 의과대학 병리학교실
전화: 02-650-5044
Fax: 02-653-8891
E-mail: woonshan@shinbiro.com

Expression of Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) of Major Intrahepatic Bile Duct Epithelium in Resected Liver Tissue with Hepatolithiasis and Hepatolithiasis Associated with Cholangiocarcinoma

Shi Nae Lee, Sun Hee Sung and Woon Sup Han

Department of Pathology, Ewha Womans University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : Histologic progressive changes of bile duct epithelium with hyperplasia, dysplasia and cholangiocarcinoma could be caused by hepatolithiasis. To be clarified as a neoplastic process, this histologic process should be evaluated with various aspects of cell biology. **Methods :** Immunohistochemical study of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) was performed on 45 cases (10; normal, 15; hyperplasia, 14; low-grade dysplasia: LGD, 6; high-grade dysplasia: HGD) of hepatolithiasis and 10 cases (all HGD) of hepatolithiasis with cholangiocarcinoma. **Results :** In the hepatolithiasis, mean PCNA labelling indices (LI) of normal, hyperplasia, LGD and HGD of major intrahepatic bile duct epithelium were 24.5 ± 4.3 , 51.5 ± 10.1 , 62.0 ± 7.4 and 84.7 ± 5.3 , respectively and gradually increased. Mean LI of PCNA in HGD of major intrahepatic bile duct epithelium of hepatolithiasis with cholangiocarcinoma was 68.7 ± 5.7 , which was similar to that of LGD in hepatolithiasis without cholangiocarcinoma. **Conclusions :** Histologic transformation through hyperplasia, dysplasia and carcinoma in major intrahepatic bile duct epithelium of hepatolithiasis may be a neoplastic process if these histologic changes are evaluated in the cellular proliferation aspect.

Key Words : Proliferating Cell Nuclear Antigen-Bile Duct Diseases-Cholangiocarcinoma

담관암종의 발병원인은 대부분 아직도 분명하게 밝혀지지 않았으나 총담관낭종, 경화성담관염, 간혹충 등이 위험인자로 알려져 있으며¹ 간내담석증은 서구보다는 동남아시아에 발생빈도가 높은 질환으로^{2,3} 담관암종의 주요한 위험인자로 간주된다.^{4,5} 또한 간내담석증 일부에서 담관암종이 병발되며 그 빈도는 보고에 따라 차이가 있으나, 대개 간내담석증의 4%내지 11%에서 담관암종을 동반한다.⁴⁻⁷ 간내담석증으로 절제된 간 조직을 관찰하면 주담관에서 샘종성 증식을 지닌 만성 증식성 담관염의 소견을 볼 수 있다.^{4,5,8,9}

이러한 만성 증식성 담관염 소견과 더불어 일부에서는 비정형 상피증식을 관찰할 수 있으며^{4,5} 이는 담관암종으로 진행될 수 있는 형성이상으로 간주할 수 있다. 간내담석증에 동반되는 담관상피의 형성이상 변화에 대한 연구는 비교적 드물 뿐 아니라^{5,10} 형성이상을 보다 구체적인 저등급 및 고등급으로 분류하여

관찰한 연구는 한 등¹¹의 보고에서만 찾아 볼 수 있다.

한편 간내담석증과 담관암종이 동반될 경우 주담관에서 만성 증식성 담관염이 항상 관찰되면서 암종의 주위에서 형성이상 변화에 대한 보고가 있다.^{5,10}

또한 간내담석증에서 간내담관상피의 형성이상 변화를 조직학적 관찰 뿐 아니라 세포증식능의 표지자를 이용하여 연구한 경우는 극히 일부에서 찾아볼 수 있다.^{12,13} 즉 간내담석증에 동반된 담관상피 변화에서 핵내 argyrophilic nuclear organizer regions (AgNORs) 수를 관찰한 결과 정상, 증식증, 형성이상, 담관내암 및 침습암의 순으로 수치가 증가하였고¹² 또한 간내담석증의 담관상피 변화에 대해 proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 면역염색을 시행한 바 정상보다 증식증에, 증식증보다 형성이상 상피에서 양성 세포가 증가하였다.¹³ 세포증식능의 표지자 중 PCNA는 36 kDa 산성 핵단백질로 DNA

polymerase delta의 보조인자로 작용하며 세포주기 G1기에 증가되어 S기에 최고치를 나타내 세포증식능과 비례한다고 알려져 있다.¹⁴

따라서 본 연구는 간내담석증 및 간내담석증과 동반된 담관암 증으로 절제된 간 조직에서 담관상피의 증식증과 형성이상을 저등급 및 고등급으로 세분화하여 관찰하고, 각 병변에서 PCNA에 대한 면역염색을 시행하여 세포증식능을 구하고 이를 서로 비교분석하였다.

재료와 방법

재료

1993년 10월부터 2000년 12월까지 이화대 부속 목동병원에 내원하여 간내담석증 혹은 간내담석증과 담관암증이 병발되어 수술로 절제된 간 조직 총 72예에서 간내담석증으로 절제된 59예와 간내담석증과 담관암증이 병발된 13예를 조사하였다.

간내담석증 59예 중 주담관 상피세포 변화로 전형적인 증식증을 보인 15예와 형성이상을 나타낸 20예를 합한 35예와 주담관에 정상 상피세포가 잘 보존된 10예를 합하여 45예를 연구 대상으로 하였다. 또한 간내담석증과 담관암증이 병발된 13예 중에서는 충분한 간 조직이 얻어진 10예를 연구대상으로 하였다.

방법

병리조직학적 검색

절제된 간 조직은 10% 중성 포르말린에 고정된 후 10 내지 15개의 절편을 만든 다음 통상적인 HE 염색을 시행하여 광학 현미경으로 관찰하였다. 담관 상피는 모든 예에서 정상 및 증식증만 있는 경우나 형성이상까지 동반된 다양한 변화가 나타났으나, 이중 가장 심한 상피 변화를 연구 대상으로 하였다. 정상 담관 상피는 단층 입방세포들로 이루어져 있고, 핵은 둥글며, 주로 세포 중심이나 기저막 근처 하부에 위치한다. 핵 염색질은 균일하며 과염색성이 없고 핵막이 평활하다. 증식증에서는 정상에서와 유사한 상피세포들이 중층배열을 하며 핵은 다소 증대될 수 있으나 핵염색질은 정상 세포와 같다. 형성이상은 한 등의 기준¹¹을 적용하여 저등급 및 고등급 형성이상으로 세분화하였다.

저등급 형성이상은 담관 상피세포의 핵이 정상에 비해 증대되면서 핵염색질이 과염색되고 핵소체가 현미경 100배(대안렌즈 10×, 대물렌즈 10×)시에서 뚜렷하지 않거나 작은 핵소체가 여러 개 나타날 때로 정하였다. 고등급 형성이상은 담관 상피세포의 핵이 증대되고 핵염색질이 과염색을 나타내며 둥글고 큰 핵소체가 현미경 100배 시에서도 뚜렷이 잘 관찰될 경우 혹은 심한 핵의 증대와 핵염색질이 고도의 과염색을 띠고 심한 다형성을 보이는 상피내 암종의 양상을 보일 때로 정하였다.

간내담석증과 담관암증이 병발된 10예는 명백한 담관암증의 부위는 제외시키고 주담관 상피세포의 변화를 관찰한바 모두 형성 이상이 나타났으며, 이를 상기의 기준에 의해 등급을 세분하였다.

면역조직화학적 검색

간 절편 중 가장 대표적인 파라핀 블록을 택하여 5 μm로 박절한 다음 크실렌으로 파라핀 제거 후에 알코올로 함수과정을 거쳤다. 함수시킨 절편을 전자오븐에서 0.1 M 구연산완충액(pH6.0)에 15분간 처리한 후에 트리스완충액으로 세척하여 3% 과산화수소수로 내인성 과산화효소의 작용을 억제시켰다. 다시 트리스완충액으로 세척 후 정상 억제 혈청에 20분간 반응시켰고 일차 항체로 PCNA (Novocastra, Newcastle upon Tyne, U.K.) 항체를 1:100으로 희석한 다음 실온에서 1시간 작용시켰다. 다시 트리스완충액으로 세척한 다음 이차 항체에 30분간 반응시켰고 수세 후 streptavidin과 과산화효소가 결합된 용액에 실온에서 30분간 처리하였다. 완충액으로 수세 후 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC)로 발색시킨 다음 헤마톡실린으로 대조 염색하여 봉입하였다.

면역염색 판독 및 통계

담관 상피세포의 각 변화에서 세포핵 500개 중 PCNA 양성인 핵의 수를 세어 백분율로 표시한 것을 표지지수(labeling index:LI)로 정하였다. 각 예당 표지지수를 계산하고 각 병변에서 해당 예수로 나누어 평균 지수를 구하였다.

각 군간의 비교는 SAS 프로그램(SAS institute, version 6.12, NC, U.S.A.)의 one way ANOVA ($p < 0.0001$) 기법을 이용하였으며, Tukey's studentized range test로 검증하였다.

결 과

간내주담관의 병리조직 소견

간내담석증으로 절제된 간 조직내 주담관의 상피 변화로는 정상 상피 10예를 제외하고 증식증은 15예이었고 20예가 형성이상의 소견을 나타냈으며 이 중 저등급 형성 이상이 14예, 고등급 형성 이상이 6예를 나타냈다. 한편 간내담석증과 함께 담관암증을 동반한 경우 간 조직내 주담관의 상피 변화를 관찰한 바, 10예 모두가 고등급 형성 이상 소견을 보였다(Table 1).

간내주담관 상피 변화와 PCNA 표지지수 비교

간내담석증으로 절제된 간 조직내 담관 상피의 정상 소견을 보인 10예에서는 PCNA 표지지수가 17.0에서 32.7 사이로 평균 24.5 ± 4.3 이었다(Fig. 1). 증식증을 보인 15예에서는 PCNA 표

표지 지수가 최저 37.7에서 최고 69.7사이로 분포되어 평균 표지 지수가 51.5 ± 10.1 로, 저등급 및 고등급 형성이상에 비해 유의있게 낮았고 정상 상피에 비해서는 표지 지수가 높았다(Fig. 2)(Table 2).

또한 같은 질병으로 절제된 간 조직내 담관상피의 저등급 형성 이상을 보인 14예에서는 PCNA 표지 지수가 최저 50.0에서

Table 1. Histopathologic features of major intrahepatic bile duct epithelium in the liver of hepatolithiasis and hepatolithiasis with cholangiocarcinoma

Bile duct histopathology	Hepatolithiasis (No. of case)	Hepatolithiasis with cholangiocarcinoma (No. of case)
Normal	10	-
Hyperplasia	15	-
Low-grade dysplasia	14	-
High-grade dysplasia	6	10
Total	45	10

최고 75.7을 나타내고 평균 표지 지수가 62.0 ± 7.4 이었다. 이것은 정상 상피 및 증식증에 비해서는 높은 표지 지수이나 고등급 형성 이상보다는 유의있게 낮은 표지 지수를 나타낸 것이다(Fig. 3)(Table 2).

담관 상피가 고등급 형성 이상을 보인 6예에서는 PCNA 표지 지수가 최저 78.7에서 최고 91.0으로 평균 표지 지수가 84.7 ± 5.3 을 나타내 정상 상피, 증식증 및 저등급 형성 이상에서보다 유의 있게 높은 PCNA 표지 지수를 보였다(Fig. 4)(Table 2).

한편 간내담석증과 함께 담관암종이 동반된 경우에 관찰된 담관상피 고등급 형성 이상에서는 PCNA 표지 지수가 최저 59.3에서 최고 76.7로 평균 표지 지수가 68.7 ± 5.7 이었다. 이것은 간내담석증에서 나타난 정상 상피 및 증식증보다는 높은 지수이나 고등급 형성 이상보다는 낮게 나타났고 저등급 형성 이상에 비해 다소 수치는 높으나 유의 있는 차이는 없었다(Fig. 5)(Table 2).

Table 2. Comparison of PCNA labelling index among histologic changes of intrahepatic bile duct epithelium in the liver with hepatolithiasis and hepatolithiasis with cholangiocarcinoma

Disease	Bile duct histology	PCNA labelling index (%)	
		Range	Mean \pm SD
Hepatolithiasis	Normal (n=10)	17.0-32.7	24.5 ± 4.3^d
	Hyperplasia (n=15)	37.7-69.7	51.5 ± 10.1^c
	Low-grade dysplasia (n=14)	50.0-75.7	62.0 ± 7.4^b
	High-grade dysplasia (n=6)	78.7-91.0	84.7 ± 5.3^a
Hepatolithiasis with cholangiocarcinoma	High-grade dysplasia (n=10)	59.3-76.7	68.7 ± 5.7^b

PCNA; proliferating cell nuclear antigen.

^{a,b,c,d}: Values with different alphabet in the same row are significantly different at $\alpha=0.05$ by Tukey's studentized range test.

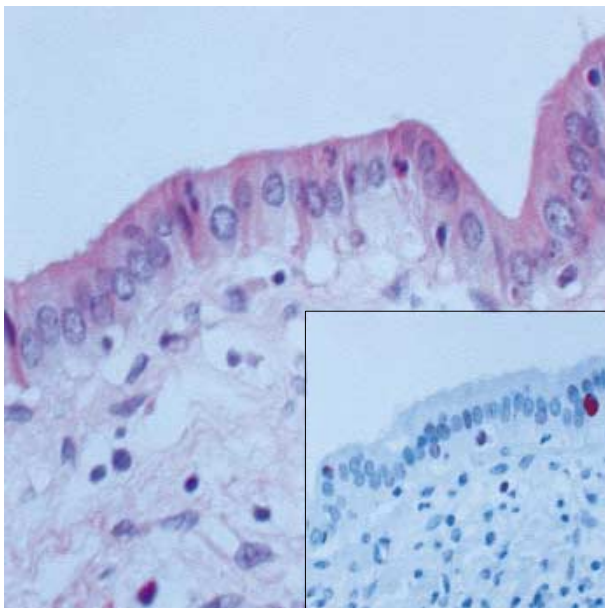


Fig. 1. Normal single layer of intrahepatic bile duct epithelium is noted in hepatolithiasis with nuclear expression of proliferating cell nuclear antigen by immunostaining (inset).

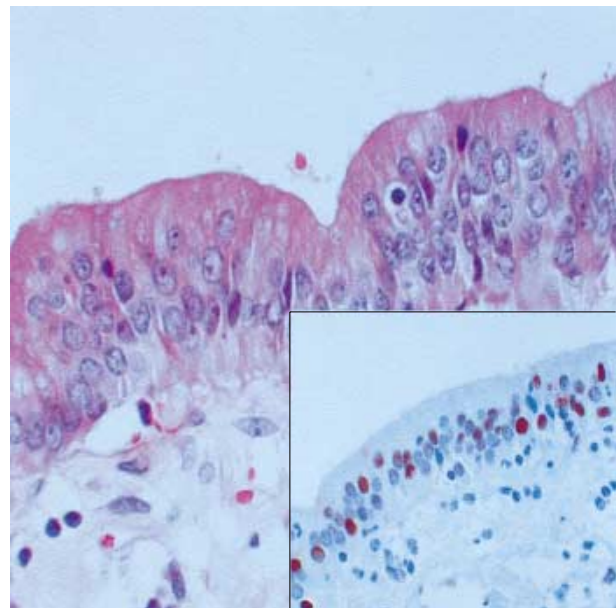


Fig. 2. Hyperplastic intrahepatic bile duct epithelium is seen in hepatolithiasis with nuclear expression of proliferating cell nuclear antigen by immunostaining (inset).

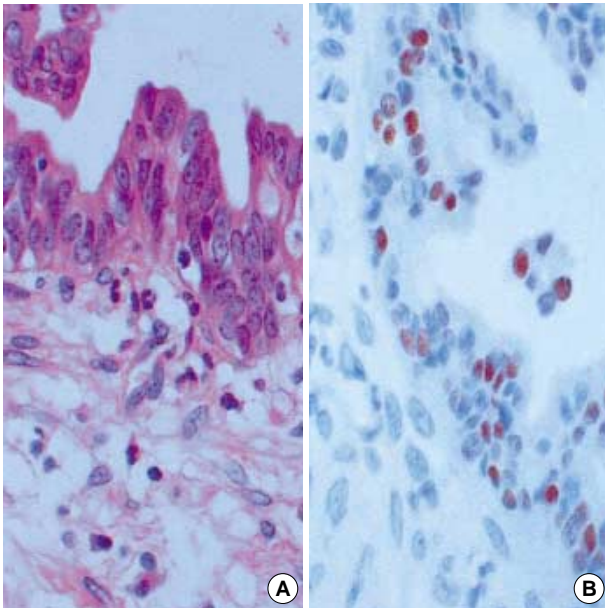


Fig. 3. The low-grade dysplasia of intrahepatic bile duct epithelium (A) in hepatolithiasis shows positive nuclear proliferating cell nuclear antigen by immunostaining (B).

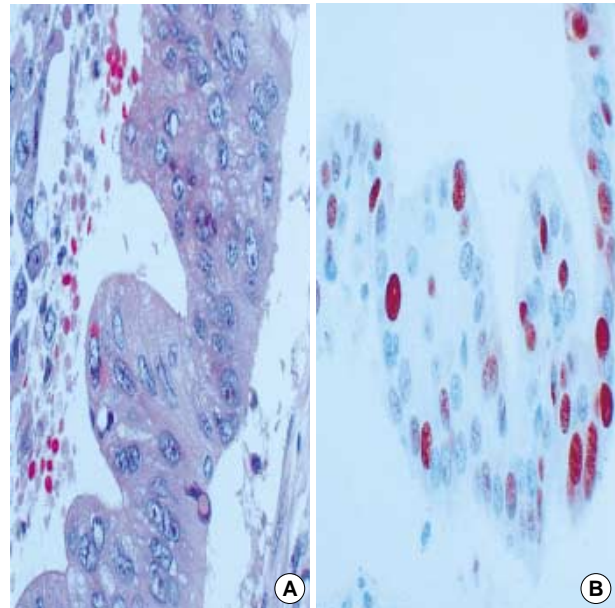


Fig. 5. High-grade dysplasia of intrahepatic bile duct epithelium (A) reveals increased number of proliferating cell nuclear antigen positive nuclei (B) than those of hyperplastic bile duct epithelium in hepatolithiasis with cholangiocarcinoma.

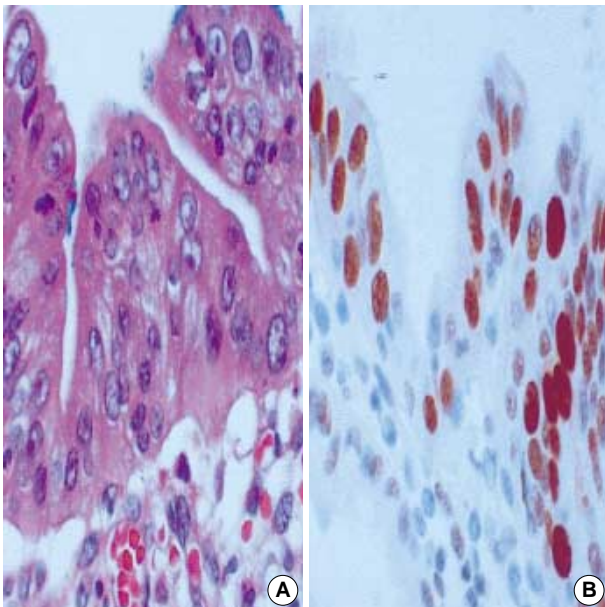


Fig. 4. High-grade dysplasia of intrahepatic bile duct epithelium (A) shows increased number of proliferating cell nuclear antigen positive nuclei (B) than those of low-grade dysplasia or hyperplasia of bile duct epithelium in hepatolithiasis.

고찰

간내담석증에서 조직학적으로 만성 증식성 담관염의 소견을 볼 수 있으며^{4,5,8,9} 이 때 일부 상피세포의 비정형증식증(atypical

epithelial hyperplasia)이 관찰되는데, 이는 담관암으로 진행될 수 있는 형성이상 병변이다.^{4,5} 따라서 간내담석은 주담관 벽에 샘종성 증식을 일으키고, 담관 상피의 유두변화를 야기시키며, 상피세포의 형성이상을 통하여 담관암증을 유발시킬 수 있다.⁹ 실제로 간내담석증의 경우 4 내지 11%에서 담관암증을 동반한다.⁶ 본 연구에서도 동일 기간 내 59예의 간내담석증과 13예의 담관암증이 병발된 예를 합한 간내담석증 총 72예 중 13예에서 담관암증이 동반되어 간내담석증의 18%를 차지하고 있었다. 이는 타 보고에 비하여 높은 비율이나 본 연구는 간내담석증 치료에서 다른 치료를 제외시키고 간절제를 행한 경우만을 간내담석증의 총 수로 하였기 때문에 담관암증의 병발비율이 높았던 것으로 생각한다.

간내담석증에서 담관 상피의 변화는 여러 보고^{10,12}에서 일부 언급되고 있으나 부분적으로 다루고 있고 체계적인 보고는 부족한 상태이다. 그러나 간내담석증에서 담관 상피의 형성이상에 대한 보고를 보면 Nakanuma 등⁴은 간내담석증 26예 중 8예(30.8%)에서 비정형증식증을 발견하였고 담관암증이 병발된 12예에서도 중앙 주위에 담관 상피의 비정형증식증을 관찰보고하였다. 이 때 기술된 비정형증식증은 형성이상을 의미한다고 생각할 수 있으나 그 정도를 세분화한 언급은 없었다. 한 등¹⁰은 간내담석증으로 절제된 간 조직에서 주담관 상피의 형성이상을 저등급 및 고등급으로 나누어 관찰한 바 총 55예 중 저등급 형성 이상이 14예(25.5%), 고등급 형성 이상이 5예(9%)에서 나타나 간내담석증시 담관 상피세포가 전암병변으로 상당수 진행될 가능성이 있으나, 보다 더 많은 연구가 뒷받침되어야 할 것으로

생각한다. 또한 Terada 등¹²은 간내담석증 55예 중 8예에서 암 증등반 없이 담관 상피의 형성이상 소견을 발견하였고, 이는 세포의 핵이 밀집되면서 미세 유두 성장을 하고 세포질에 대한 핵 비율의 증가, 불규칙한 핵배열 및 과염색질 핵을 지닌 경한 비정형 소견이라고 기술하였다. 이는 본 연구에서 저등급 형성이상과 같은 변화로 생각할 수 있으며 성장 양상도 유사하였다. 상기 Terada 등¹²의 보고에서 간내담석증 55예 중 5예에서는 담관내암종을 관찰하였고 이는 본 연구의 고등급 형성이상에 해당되며, 본 연구도 59예 중 6예에서 고등급 형성이상이 나타나 이들의 보고와 유사한 빈도를 나타냈다.

따라서 위와 같은 보고들로 간내담석증 시 간담관 세포들의 증식능 뿐 아니라 저등급 형성이상 및 고등급 형성이상의 조직 변화가 상당수 관찰되어 담관암종의 전암병변 진행 과정을 추측하게 한다. 또한 이러한 간내담석증에서 담관 상피의 형성이상 변화와 담관암종을 종양표지자 CA19-9 및 CEA의 면역염색 발현 양상을 비교한다든지¹¹ c-erbB-2 단백발현을 비교하여¹⁵ 간내담석증 시 담관암종 발생에 있어 담관 상피의 형성이상 변화가 전암병변이라는 가능성을 높여주었다.

이러한 담관 상피세포의 형성이상 변화에 대한 세포증식능의 연구는 극히 소수에서 찾아볼 수 있다. 세포의 증식능을 평가하는데는 세포분열 관찰, 유세포측정기, 면역염색으로 Ki-67, PCNA 및 BrdU와 핵내 AgNORs 측정 등이 있다. 이중 AgNORs 방법을 이용하여 간내담석증에서 담관 상피세포 변화에 대한 증식능을 연구한 보고를 보면 담관 상피세포증식증에서는 1.52 ± 0.37 , 형성이상이 2.28 ± 0.56 , 비침습암종이 3.23 ± 1.00 , 침습암종이 3.72 ± 0.77 의 수치를 보여 증식증, 형성이상, 비침습암종 및 침습암종의 순으로 담관암종의 조직학적 발병과정을 추정하였다.¹²

또한 PCNA 면역염색을 통해 간내담석증에서 나타나는 담관 상피세포 변화의 증식능을 관찰한 바 주담관 벽내선, 담관 벽외선 및 상피의 PCNA 표지자수가 각각 $49.4 \pm 8.3\%$, $40.6 \pm 7.0\%$ 및 $34.1 \pm 6.8\%$ 로 정상보다 유의하게 높은 지수를 나타냈다고 하였다. 또한 간내담석증 30예 중 6예에서 형성이상 소견이 관찰되었는데 이때 PCNA 표지자수가 증식증보다 높다고 하였다.¹³ 본 연구에서도 비교적 용이한 파라핀 블록을 이용하여 세포증식능을 가늠할 수 있는 PCNA 방법으로 간내담석증에서 관찰된 전형적 증식증과 형성이상을 저등급 및 고등급으로 나누었고, 간내담석증에 병발된 담관암종에서 종양을 제외한 담관상피의 변화인 고등급 형성이상에서의 증식능을 비교관찰하였다. 연구 결과, 타 보고와 유사한 결과를 얻었다. 즉 간내담석증 시 평균 PCNA 표지자수가 정상상피에서는 24.5 ± 4.3 , 증식증에서는 51.5 ± 10.1 , 저등급 형성이상은 62.0 ± 7.4 , 고등급 형성이상에서는 84.7 ± 5.3 으로 정상 상피로부터 증식증, 저등급 형성이상 및 고등급 형성이상으로 갈수록 PCNA 표지자수가 높아지는 것을 알 수 있었다. 그러나 간내담석증과 동반된 담관암종의 경우에 관찰된 고등급 형성이상에서는 PCNA 표지자수가 68.7

± 5.7 로 간내담석증 경우의 고등급 형성이상보다 낮은 지수를 나타냈으며 증식증보다는 유의하게 높았고 저등급 형성이상보다 다소 높기는 하였으나 유의있는 차이가 없었다. 이는 PCNA 염색시 조직의 고정액이나 고정 시간의 문제 또는 상피내암이 되면서 세포증식의 조절이 안되거나 다른 요인으로 인해 PCNA 양성 반응이 소실되기 시작하기 때문일 것으로 추정되나¹⁴ 이에 대한 검토는 추후 좀더 세밀한 연구가 이루어져야 할 것으로 생각한다.

따라서 본 연구결과, 간내담석증에서 담관내 상피세포는 증식증, 저등급 형성이상, 고등급 형성이상, 담관암종의 순으로 조직 변화가 진행될 가능성을 조직학적 소견뿐 아니라 세포증식능면으로도 뒷받침 할 수 있다고 생각한다.

참고문헌

1. Nakeeb A, Pitt HA, Sohn TA, *et al.* Cholangiocarcinoma: a spectrum of intrahepatic, perihilar and distal tumors. *Ann Surg* 1996; 224: 463-73.
2. Sato T, Suzuki N, Vematsu I. Surgical treatment of intrahepatic stones. *Ann Surg* 1980; 192: 28-32.
3. Nakayama F, Soloway RD, Nakama T, *et al.* Hepatolithiasis in east asia: retrospective study. *Dig Dis Sci* 1986; 31: 21-6.
4. Nakamura Y, Terada T, Tanaka Y, Ohta G. Are hepatolithiasis and cholangiocarcinoma etiologically related? A morphological study of 12 cases of hepatolithiasis associated with cholangiocarcinoma. *Virchow Arch(A)*1985; 406: 45-58.
5. Koga A, Ichimiya H, Yamaguchi K, Miyazaki K, Nakayama F. Hepatolithiasis associated with cholangiocarcinoma: possible etiologic significance. *Cancer* 1985; 55: 2826-9.
6. Chen MF, Jan YY, Wang CS, *et al.* A reappraisal of cholangiocarcinoma in patient with hepatolithiasis. *Cancer* 1993; 71: 2461-5.
7. Chen MF, Jan YY, Wang CS, Jeng LBB, Hwang TL, Chen SC. Intrahepatic stones associated with cholangiocarcinoma. *Am J Gastroenterol* 1989; 84: 391-5.
8. Su CH, Shyr YM, Lui WY, P'Eng FK. Hepatolithiasis associated with cholangiocarcinoma. *Br J Surg* 1997; 84: 969-73.
9. Chijiwa K, Ichimiya H, Kuroki S, Koga A, Nakayama F. Late development of cholangiocarcinoma after the treatment of hepatolithiasis. *Surg Gynecol Obstet* 1993; 177: 279-82.
10. Ohta T, Nagakawa T, Ueda N, *et al.* Mucosal dysplasia of the liver and the intraductal variant of peripheral cholangiocarcinoma in hepatolithiasis. *Cancer* 1991; 68: 2217-23.
11. Han WS, Choi SK, Sung SH. The observation of histologic changes of major intrahepatic bile duct epithelium in the resected liver tissue with hepatolithiasis. *Korean J Pathol* 2001; 35: 20-5.

12. Terada T, Nakanuma Y, Ohta G, Nagakawa T. Histological features and interphase nucleolar organizer regions in hyperplastic, dysplastic and neoplastic epithelium of intrahepatic bile ducts in hepatolithiasis. *Histopathology* 1992; 21: 233-40.
13. Lee KT, Sheen PC. Proliferating cell nuclear antigen expression in peribiliary glands of stone-containing intrahepatic bile ducts. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 2251-6.
14. Hwang W Y-F, Coltrera M, Schubert M, Morton T, Truelove E. Histopathologic evaluation of proliferating cell nuclear antigen CP (10) in oral epithelial hyperplasias and premalignant lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 78: 748-54.
15. Terada T, Ashida K, Endo K, *et al.* C-erbB-2 protein is expressed in hepatolithiasis and cholangiocarcinoma. *Histopathology* 1998; 33: 3625-31.