

## 자궁경부종양에서 p63 발현과 다른 면역조직화학 표지자와의 비교 분석

김민영 · 조삼현<sup>1</sup> · 박문향

한양대학교 의과대학 병리학교실  
산부인과학교실

접 수 : 2003년 7월 24일

게재승인 : 2003년 10월 7일

책임저자 : 박 문 향

우 133-792 서울시 성동구 행당동 17

한양대학교 의과대학 병리학교실

전화: 02-2290-8249

Fax: 02-2296-7502

E-mail: parkmh@hanyang.ac.kr

### Analysis of Expression of p63 in Cervical Neoplasia Comparing with Other Immunohistochemical Markers

Min Yeong Kim, Sam Hyun Cho<sup>1</sup> and Moon Hyang Park

Departments of Pathology and <sup>1</sup>Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea

**Background :** The reproducibility in grading a cervical intraepithelial neoplasia (CIN) are not perfect. The aim of this study was to assess the value of the immunohistochemical expression of p63 and the other biomarkers for grading a CIN (dysplasia and in situ carcinoma), and diagnosing invasive carcinomas. **Methods :** Sixty six cervical specimens were immunostained with the monoclonal antibodies against p63, Ki-67, p27<sup>Kip1</sup>, and p53 to determine the localization. **Results :** The p63 positive cells are well linked with squamous cell maturation and the degree of dysplasia. In mild dysplasia, the p63 positive cells were localized to the basal and parabasal cells, which gradually extended into the middle and upper layers in moderate and severe dysplasia. p63 expression was strong in immature squamous epithelium and invasive squamous cells, but was constantly absent in an adenocarcinoma. The Ki-67 positive cells were scattered from the parabasal cells to the superficial cells in accordance with the degree of dysplasia. p27<sup>Kip1</sup> expression was noted in the intermediate cells in the normal cervix. In CIN, the p27<sup>Kip1</sup> positive nuclei tended to extend to the basal cells, but it showed no diagnostic consistency in an invasive carcinoma. p53 expression was also variable. **Conclusion :** p63 is a useful diagnostic adjunct for grading CIN as well as for detecting microinvasion and squamous differentiation in invasive carcinoma. However, immunohistochemical expressions for the p27<sup>Kip1</sup> and p53 have no correlation with the grade of CIN and squamous cell carcinoma.

**Key Words :** Cervical neoplasms-p63-Ki-67-p27<sup>Kip1</sup>-p53

자궁경부 상피내종양(Cervical intraepithelial neoplasia, CIN)을 등급화하는 문제에 대해서는 오랫동안 논란이 지속되고 있다. CIN은 자궁경부 조직을 적절히 생검하여 고정한 경우 쉽게 진단할 수 있으나, 때로 관찰자간의 이견이 있어 재현성이 좋지 않은 편이다.<sup>1-3</sup> 또한, 미성숙 편평화생, 위축성 자궁경부 상피, 재생되는 상피에 비정형성 변화가 동반된 경우 고등급편평상피내병소(high grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)와 특히 감별이 어려울 수 있으며, 공동세포와 비슷한 변화를 보일 경우에 이를 저등급편평상피내병소(low grade squamous intraepithelial lesion, LSIL)과 구별하는 데 어려울 수 있다.<sup>4,5</sup> 특히 관찰자간의 재현성이 주로 LSIL에서 나쁘다고 하며,<sup>1,3</sup> 헤마톡실린과 에오진(HE) 염색 소견이 확실하지 않은 경우에 한하여 면역조직화학 방법은 정확한 진단에 도움이 된다.<sup>5-7</sup> 이 중 세포 증식의 표지자로 알려진 Ki-67에 대한 항체(MIB-1)로 면역조

조직학적 염색을 시행하면 이형성의 정도와 높은 연관성이 있어 감별 진단에 도움이 된다.<sup>6-9</sup> 특히 이 방법은 LSIL과 정상 자궁경부 상피와의 비교에 효과적인 방법으로 활용되며,<sup>10</sup> 또한 편치 생검에서 잘 동반되는 부적절한 검체인 경우나 위축성 자궁경부 상피에도 보조적인 진단 방법이 될 수 있다.<sup>11</sup> Ki-67 이외 여러 면역조직화학적 표지자로는 증식세포항원(PCNA), cyclin E, p21, p16<sup>ink4</sup>, p53, MN antigen, carcinoembryonic antigen (CEA)과 telomerase 등이 연구되고 있다.<sup>7,8,12,13</sup>

p63은 종양 억제 유전자인 p53과 높은 상동성을 가진 새로운 유전자의 하나로, p73과 함께 p53 family의 하나로 최근에 알려졌다. p63이 자발적인 종양 발생에 관련된 보고는 아직까지 없다. 그러나 p53은 종양형성 기전에 관여하는 것으로 알려져 있기 때문에, p63 유전자의 증폭이 종양형성과 관련이 있을 가능성이 가설로 제기되고 있다.<sup>14</sup> p63은 사람과 동물의 피부상피,

요상피, 유방, 전립선, 자궁경부 등의 기저편평상피와 원주하 세포(subcolumnar cells)에서 발현하는 것으로 알려져 있다.<sup>15</sup> 생쥐에서 p63의 불활성화는 생쥐 배아에서 후기에 복합적인 기형을 유발한다.<sup>16</sup> Quade 등<sup>17</sup>은 여러 종류의 CIN에서 p63 발현을 Ki-67, keratin 14, Bcl-2와 함께 면역조직화학적으로 비교한 연구에서, p63은 편평상피 계통의 미숙한 세포에서 주로 발현하지만 세포증식과는 연관이 없었다고 보고하였다. 또한 p63은 자궁경부 이행부에서 양성과 중앙성 상피의 기저세포를 동정할 수 있으며, 이 부위의 중앙성 변화의 초기 세포분화를 연구하는데 유용할 것이라고 하였다.<sup>17</sup> 편평세포암종과 신경모세포종에 있어서 관련이 있다는 보고<sup>14</sup>와 식도를 포함한 위장관계의 화생과 중앙성 질환, 두경부의 조직에서 연구가 있으나,<sup>18-20</sup> 자궁경부에 대한 보고는 드물다.<sup>17,21</sup>

p27<sup>Kip1</sup> (p27)은 cyclin-의존성 키나제 억제계(cyclin-dependent kinase inhibitor family)의 일원으로, 이 단백질의 발현이 일부의 상피성 종양의 발달과 진행 과정에서 감소하는 것으로 알려져 있다. 그러나 발현의 양상이나 정도가 연구자에 따라 다르게 보고되고 있다.<sup>22-24</sup>

p53은 세포주기와 세포자멸사를 조절하는 유전자이며 중앙억제 유전자로 알려져 있다. 특히 위장관계의 샘암종에서 p53의 변이가 잘 알려져 있으나, 자궁경부의 편평세포암종이나 CIN에서 p53 발현에 관한 연구의 결과는 일정하지 않다.<sup>12,25</sup>

이에 저자들은 생검이나 수술적으로 절제한 자궁경부의 상피내종양, 미세침윤성 편평세포암종, 침윤성 편평세포암종을 진단하는 데 p63과 더불어 Ki-67, p27 및 p53에 대한 면역조직화학 염색 발현 양상을 관찰하였다.

## 재료와 방법

### 연구 대상

2000년 9월부터 2002년 2월까지 18개월간 한양대학교 병원 병리과에 접수된 66명의 여자 환자의 자궁 경부 검체를 대상으로 하였다. 환자의 나이는 23세부터 75세까지였으며 평균 43세였다. 검체는 자궁적출술, 자궁경부 원추생검, 편치 생검 및 자궁경부용종절제술에 의해 얻어졌다. 자궁 경부의 중앙성 병변으로 진단된 66예는 경도 이형성증(mild dysplasia) 13예(평균 42세), 중등도 이형성증(moderate dysplasia) 9예(평균 35세), 고도 이형성증(severe dysplasia) 3예(평균 42세), 상피내암종(carcinoma in situ, CIS) 23예(평균 43세), 미세침윤성 편평세포암종 4예(평균 37세), 침윤성 편평세포암종 14예(평균 55세)였다. 대조군으로는 정상 및 만성 경부염증으로 진단된 5예(평균 40세)를 이용하였고, 암종 대조군으로 3예의 샘암종과 2예의 신경내분비 종양을 선택하여 이들의 면역조직화학 염색 소견을 비교하였다.

### 방법

#### 병리학적 검색

경부 생검 조직의 광학현미경적 검사를 위한 절편은 10% 중성 포르말린 용액에 고정하였고, 통상의 과정으로 파라핀 포매 후 4  $\mu$ m 두께로 박절한 후 HE 염색을 시행하여, 광학현미경 소견에 따라 분류하였다. 경도 이형성증은 비정형 변화와 표층에 공동세포변화가 경미한경우로 이형성 변화가 기저층과 방기저층세포에서 관찰되고 핵분열이 아래 1/3 층에 국한되는 경우로 하였고, 중등도 이형성증은 이형성 세포변화와 핵분열상이 아래 1/2 정도까지 관찰되고 그 위층에서 분화를 보이고 공동세포들도 관찰되는 경우로 하였다. 이형성 변화가 이보다 더 광범위하게 약 2/3 정도로 나타나지만 표층에서 분화를 보이는 경우를 고도 이형성증, 전층에 이형성 변화를 보이는 경우를 상피내암종(CIS)으로 구분하였고, 미세침윤성 편평상피암, 침윤성 편평상피암, 기타 암종으로 구분하였다.

#### 면역조직화학 염색 및 판정

파라핀 블록을 약 4  $\mu$ m의 두께로 박절하고 poly-L-lysine (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, U.S.A.)으로 처리한 유리 슬라이드를 사용하여 표본을 부착하여 60°C에서 2시간 건조하였다. 파라핀을 제거하고 합수 과정을 거쳐 세척하였다. 3% 과산화수소수로 5분간 처리하여 내인성 과산화효소를 억제한 후 증류수로 세척하였다. Tris 완충액(pH 7.6)에 5분간 방치하고, 구연산 완충액(citrate buffer, pH 6.0)에 담가 압력밥솥에서 1분간 전처리한 후 실온에서 냉각시키고, 증류수로 수세하였다. Tris 완충액(pH 7.6)으로 5분간 2회 씻은 후 5% 정상 염소 혈청에 10분간 반응시켰다. 이후 1:50으로 희석한 p63 (Oncogene Research Product, Boston, MA, U.S.A.), MIB-1 단클론 항체(Biogenex, San Ramon, CA, U.S.A.), p27 (DAKO A/S, Denmark) 및 미리 희석된 p53 (Immunotech, Marseille, Cedex, France)을 사용하여 1시간 동안 반응시켰다. Tris 완충액으로 5분간 3회 세척하고, biotin이 부착된 이차 항체인 goat anti-mouse IgG (LSAB-kit; DAKO, Carpinteria, CA, U.S.A.)에 20분간 반응시켰다. Tris 완충액으로 5분간 3회 세척한 후 과산화소(peroxidase)가 부착된 streptavidin에 20분간 반응시켰다. 그 후 Tris 완충액에 5분간 3회 세척하였다. 그 후 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB)로 발색시키고, Mayer's hematoxylin에 10초간 대조염색한 후 Canada balsam으로 봉입하였다. HE 염색에서 광학현미경상 병소가 있는 부위를 점으로 표시한 후 면역조직화학 염색한 절편에서 해당부위와 비교하여 핵에 뚜렷하게 양성인 세포의 수를 백분율로 표시하고 발현의 정도와 형태를 비교하였다.

자궁경부내종양과 미세침윤성 및 침윤성 암종 병변에서 면역염색에 양성인 세포를 세어서 기저세포(basal cell)층, 방기저세포(parabasal cell)층, 중간세포(intermediate cell)층 그리고 표

층세포(superficial cell) 층으로 나누어서 백분율로 표시하였다. 침윤성 암종에서는 중앙상피세포의 염색 범위에 따라 고도(>80%), 중등도(30-80%), 경도(<30%)로 나누었고, 염색강도를 1+에서 3+로 표시하였다.

**통계학적 분석**

HE 염색상 분류된 경도 이형성증, 중등도 이형성증, 고도 이형성증, CIS, 미세침윤성 편평세포암종, 침윤성 편평세포암종별로 각각의 p63, Ki-67, p27 및 p53에 대한 발현을 기저세포, 방기저세포, 중간세포 및 표층세포층으로 나누어 각각의 면역조직화학 염색에 양성인 세포의 백분율로 표시하였다. 그 결과를 같은 세포층에서 각각 나누어 면역조직화학 염색별로 비교하여 유의한 차이와 상관관계를 알아보기 위해, Microsoft Excel 2002에서 "분산 분석: 일원배치법(one-way ANOVA)"을 이용하여 분석하였다.

**결 과**

**p63의 발현**

정상 경부 조직에서 p63의 발현 양상을 보면 정상 경부 편평상피와 편평화생을 보이는 중층 편평상피 점막의 기저세포에 양성인 세포가 81.3±18%와 90±7.1%였고, 그 상부의 방기저세포 한두 층 정도의 핵에도 양성으로 염색되는 세포는 72±7.1%와 87.5±3.5% 정도 관찰되었다. 중간세포층은 6.7±11.5%와 67.5±17.7%였다. 염색도는 기저세포에 비해 위로 갈수록 점차 약하게 나타났고 표층세포에는 모두 음성이었다.

경도 이형성증인 경우는 기저세포의 90±7%와 방기저세포층의 83.8±6.4%에서 양성으로 발현하는 핵을 가진 세포들이 보여서 정상보다 증가되었다. 중간세포층은 평균 36.2±31%로 염색도가 훨씬 감소된 세포들이 관찰되었으나, 대개 중간 1/2 이상은 넘지 않았고 위로 올라갈수록 핵 염색도가 점차 감소하였다(Fig.

1D). 중등도 이형성증인 경우는 기저세포와 방기저세포층에 양성인 세포의 수가 더 증가하여 평균 94±2.9%와 85.9±12.7%였고, 중간세포층 까지 양성인 핵들이 평균 49.6±31%로 관찰되었으며, 표층에는 양성세포가 거의 없었고 대개 2/3 이하에 국한하여 양성인 세포들이 산재하였다(Fig. 1E). 고도 이형성증인 경우는 기저세포층 평균 84.0±21.1%, 방기저세포층 91±1.4%, 중간세포층 91±1.4%의 양성인 세포들이 관찰되어 p63 면역조직화학 염색에서는 양성세포들이 기저세포에서부터 상층에 가까이 나타났고, 가장 표층까지도 양성인 세포들이 30±8.5% 정도 관찰되었다(Fig. 1F). CIS의 경우는 기저세포층이 평균 91±1.4%, 방기저세포층 79.4±21.3%, 중간세포층 79.4±21.3%의 양성인 세포들이 관찰되어 p63 면역조직화학 염색에서는 양성세포들이 기저세포에서부터 상층에 가까이 다수 나타났고, 가장 표층까지도 양성인 세포들이 38.7±38.7% 정도 관찰되었다. 미세침윤성 편평세포암종(Fig. 2A)의 경우는 Ki-67과는 달리 기저세포에서부터 표층세포까지 균일하게 95±0%의 세포에서 강한 양성으로 보였다(Fig. 2B). 침윤성 편평세포암종 중 각화형에서는 평균 86±14.8%의 세포에서, 비각화형에서는 88.1±11.8%의 세포에서 발현하여, 기저세포에서부터 상층까지 구분이 없었다.

통계 분석 상 정상 경부 상피에서 CIS까지 분화도에 따라 염색되는 세포의 수와, 염색성을 비교한 결과, 중간세포층과 표층 세포층에서 유의한 차이를 나타내었으며(p<0.01), 기저세포층과 방기저세포층에서는 통계적으로 유의한 차이가 없었다(Table 1).

정상 경부선세포나 샘암종과 신경내분비암종에서는 p63 면역조직화학 염색상 전혀 발현하지 않았다.

**Ki-67의 발현**

정상 경부 조직에서 Ki-67의 발현은 중층 편평상피 점막의 기저세포에는 음성이며 아래쪽에 있는 방기저세포의 핵에 부분적으로 양성으로 염색되는 양상을 보였다. 그 이상의 세포에는 음성이었다.

경도 이형성증과 중등도 이형성증의 상피내병소에서도 기저

**Table 1.** Mean p63 expression (%) and its distribution in normal cervix and neoplastic lesions

Diagnosis	Cell layer			
	Basal	Parabasal	Intermediate	Superficial
Normal	3+(81.3±18)	1+(72±7.1)	1+(6.7±11.5)	-
Metaplasia	3+(90±7.1)	1+(87.5±3.5)	1+(67.5±17.7)	-
Mild dysplasia	3+(90±7)	2+(83.8±6.4)	1+(36.2±31, low 1/3)	-
Moderate dysplasia	3+(94±2.9)	3+(85.9±12.7)	2+(50±31, low 2/3)	1+(1±2)
Severe dysplasia	3+(84.9±21.1)	3+(91±1.4)	3+(91±1.4)	2+(30±8.5)
CIS	3+(91±1.4)	3+(79.4±21.3)	3+(79.4±21.3)	3+(38.7±38.7)
Microinvasive SCC	3+(95±0)	3+(95±9)	3+(95±0)	3+(95±0)
Invasive SCC, K	3+(86±14.9)	3+(86±1)	3+(86±14.9)	3+(86±14.9)
Invasive SCC, NK	3+(88.1±11.8)	3+(88.1±11.8)	3+(88.1±11.8)	3+(88.1±11.8)

\*1+ to 3+, Staining intensity; Metaplasia, Squamous metaplasia; CIS, carcinoma in situ; SCC, squamous cell carcinoma; K, Keratinizing; NK, Nonkeratinizing. ANOVA test p<0.05: intermediate cell layer (p=0.000073), superficial layer (p=0.0007).

**Table 2.** Mean Ki-67 expression (%) and its distribution in normal cervix and neoplastic lesions

Diagnosis	Cell layer			
	Basal	Parabasal	Intermediate	Superficial
Normal/Metaplasia	1.8±4	12.6±6.5	0	0
Mild dysplasia	0.8±2	23.4±21.5	10.3±17.3	0.17±0.6
Moderate dysplasia	3±3.5	42.9±25.6	34±21	0
Severe dysplasia	13±9.9	35±21	21±1.4	70±9.9
CIS	11.2±12.8	33.1±23.7	33.3±23.5	32±24.9
Microinvasive SCC	54.8±19.5	54.8±19.5	54.8±19.5	54.8±19.5
Invasive SCC, K	44±11.4	44±11.4	44±11.4	44±11.4
Invasive SCC, NK	35.4±16.1	35.4±16.1	35.4±16.1	35.4±16.1

Metaplasia, Squamous metaplasia; CIS, carcinoma in situ; SCC, Squamous cell carcinoma; K, Keratinizing; NK, Nonkeratinizing. ANOVA test  $p < 0.05$ : basal cell layer ( $p=0.02$ ), intermediate cell layer ( $p=0.003$ ), superficial layer ( $p=0.00001$ ).

세포는 각각 평균  $0.8 \pm 2\%$ ,  $3 \pm 3.5\%$ 로 거의 염색되지 않았다. 경도 이형성증인 경우는 방기저세포층에 양성인 핵을 가진 세포의 수가 평균  $23.4 \pm 21.5\%$ 로 중간세포층이 평균  $10.3 \pm 17.3\%$ 로 증가되나, 대개 아래 1/3 두께에 국한되어 양성인 세포들이 나타났다. 그리고 표층세포층에는 평균  $0.17 \pm 0.58\%$ 로 한 예를 제외하고는 모두 음성이었고, 대개 중간 1/2 이상은 넘지 않았다(Fig. 1G). 중등도 이형성증인 경우는 기저세포에  $3 \pm 3.5\%$ 로 소수 관찰되었고, 대부분의 예에서 주로 방기저세포에 발현하여 양성 세포의 수가 평균  $42.9 \pm 25.6\%$ 로 증가하였으며, 중간세포층은 평균  $34 \pm 21\%$ 가 양성으로 경부점막의 중간 또는 아래 2/3 이하 부위에 국한하여 양성인 세포들이 산재하였다(Fig. 1H). 고도 이형성증에서는 양성인 세포들은 기저세포에서 평균  $13 \pm 9.9\%$ 였으며, 방기저세포층이  $35 \pm 21\%$ , 중간세포층이  $21 \pm 1.4\%$ , 표층세포층에도  $70 \pm 9.9\%$ 로 나타나 상층에 가까이까지 양성인 세포들이 관찰되었다(Fig. 1I). CIS에서는 층이 구분되지 않게 전 층에 걸쳐 Ki-67 면역조직화학염색에 양성인 세포들이 관찰되었다. 즉, 기저세포층에서 평균  $11.2 \pm 12.8\%$ 였으며, 방기저세포층이 평균  $33.1 \pm 23.7\%$ , 중간세포층이  $33.3 \pm 23.5\%$ , 표층세포층에도 평균  $32 \pm 24.9\%$ 의 양성인 세포들이 관찰되었다. 미세침윤성 편평세포암종은 전층에  $54.8 \pm 19.5\%$  (Fig. 2C), 각화 침윤성 편평세포암종은  $44 \pm 11.4\%$ , 비각화 침윤성 편평세포암종은  $35.4 \pm 16.1\%$ 로 양성도를 보였다.

통계적으로 Ki-67 염색 분율과 경부상피내중양성 병변이 진행됨에 따라, 이를 비교한 결과 중간세포층과 표층세포층에서 유의한 차이가 있었고( $p=0.003$ ,  $p=0.0000103$ ), 기저세포에서도 유의한 차이를 보였다( $p=0.02$ ). 미세침윤성 편평세포암종과 침윤성 편평세포암종에서는 암세포 침윤 정도와 Ki-67의 발현 정도와는 연관성이 없었다. Ki-67은 정상 자궁경부의 기저세포에서는 발현하지 않았고 방기저세포에 주로 발현하였지만, 고도 이형성증에서부터 침윤성 암종으로 진행할수록 기저세포에 발현되는 비율이 유의하게 증가하는 경향을 보였다( $p=0.02$ ). 주변

**Table 3.** Mean p27 expression (%) and its distribution in normal cervix and neoplastic lesions

Diagnosis	Cell layer			
	Basal	Parabasal	Intermediate	Superficial
Normal/Metaplasia	0	0	22.4±21.9	0
Mild dysplasia	6.3±15	5.7±14.3	17.3±25.2	1.4±4.4
Moderate dysplasia	0	4.3±11	11±30	0
Severe dysplasia	0	0	0	83±4.2
CIS	13.1±20.3	13.1±20.3	14.6±20.1	1.7±30
Microinvasive SCC	12.5±15	12.5±15	12.5±15	12.5±15
Invasive SCC, K	7.5±15	7.5±15	7.5±15	7.5±15
Invasive SCC, NK	22.1±15	22.1±15	22.1±15	22.1±15

Metaplasia, Squamous metaplasia; CIS, carcinoma in situ; SCC, Squamous cell carcinoma; K, Keratinizing; NK, Nonkeratinizing. ANOVA test: basal cell layer ( $p=0.23$ ), parabasal cell layer ( $p=0.34$ ), intermediate cell layer ( $p=0.88$ ), superficial layer ( $p=0.0003$ ).

에 중양이 아닌 내경부 원주세포들은 재생성 증식을 보이는 소수의 세포에서 양성으로 나타났다(Table 2).

샘암종이나 신경내분비 암종에서도 종양세포내의 염색 범위는 중등도나 고도로 다수의 양성 세포들이 관찰되어 세포증식 정도를 반영하였다.

### p27의 발현

정상 또는 편평화생성 경부 조직에서 p27의 발현은 내경부 선상피에는 미만성으로 양성이었으며, 중층 편평상피 점막의 기저세포와 방기저세포에는 음성이었다. 그리고 중간 1/3층에서 핵에 약하게 양성으로 발현하는 세포들이 산재되어 나타났다. 그러나 기저세포나 표층세포에는 음성이었다(Fig. 3A).

여러 정도의 자궁경부상피내병소에서는 기저세포에 대개 음성이었고 중간층에 양성인 세포가 모여 있는 경우는 경도 이형성증에서 평균  $17.3 \pm 25.2\%$ 로 관찰되었다(Fig. 3B). 중등도 이형성증(Fig. 3C)에서는 중간층에  $11 \pm 30\%$ 였으며, 고도 이형성증의 경우는 방기저세포층에서부터 중간세포층까지 대부분 발현이 소실하거나 양성인 핵을 가진 세포가 일정한 경향이 없이 산재되어 나타나기도 하여 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. CIS에서는 기저세포층과 방기저세포층에서 평균  $13.1 \pm 20.3\%$ , 중간세포층에서 평균  $14.6 \pm 20.1\%$ , 표층세포층에는 평균  $1.7 \pm 30\%$ 로 대부분의 예에서 정상에 비해 중간층의 발현이 소실하거나, 양성인 핵을 가진 세포가 일정한 경향이 없이 산재되어 나타나기도 하였다(Fig. 3D). 미세침윤성 편평세포암종에서는  $12.5 \pm 15\%$ (Fig. 2D), 침윤성 편평세포암종 중 각화형에서는  $7.5 \pm 15\%$ , 비각화형에서는  $22.1 \pm 26.6\%$ 에서 p27에 발현하는 세포들이 산재하여 병변에 따른 일정한 기준을 보이지 않았고 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 3).

주변의 내경부세포에서는 일부에서 양성 발현을 보였고, 고도 이형성증 3예 중 2예에서 주변에 상피내샘암종이 동반되어 있었

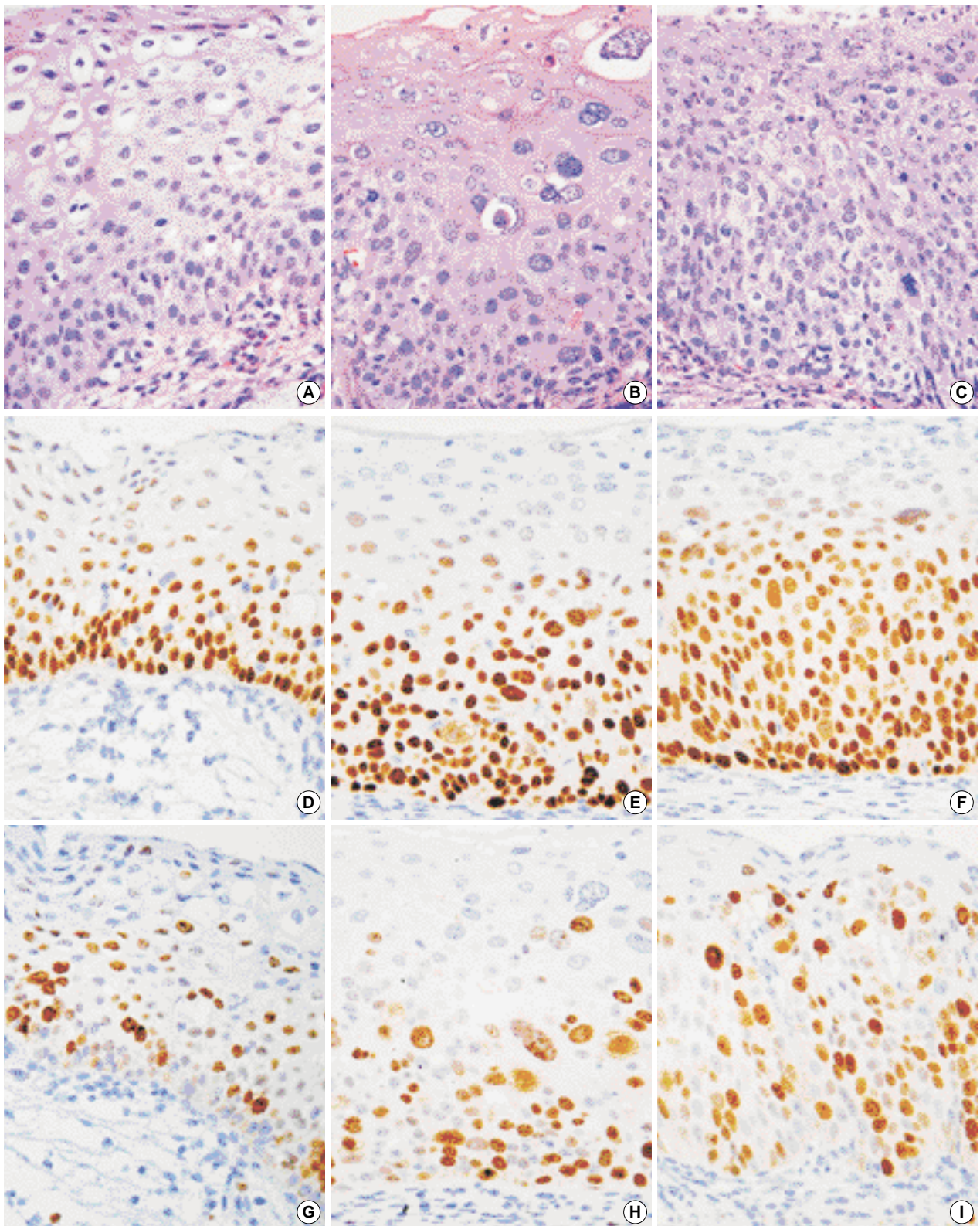
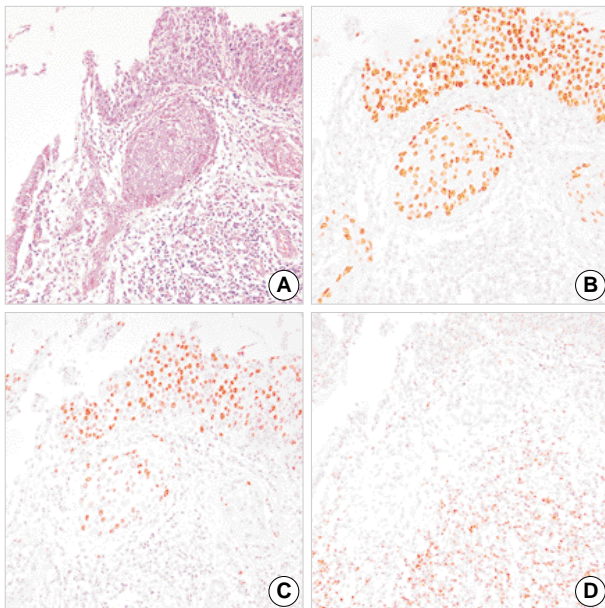


Fig. 1. Representative cases of mild dysplasia (A, D, G), moderate dysplasia (B, E, H), severe dysplasia (C, F, I), and immunostaining with p63 (D-F) and Ki-67 (G-I). p63 is expressed from the basal cell layer and inversely correlated with maturation of squamous cells. Ki-67 positive cells are scattered in the parabasal layer cells in mild dysplasia (G), and extend to the intermediate cell layer in moderate dysplasia (H), and to the superficial cells in severe dysplasia (I).

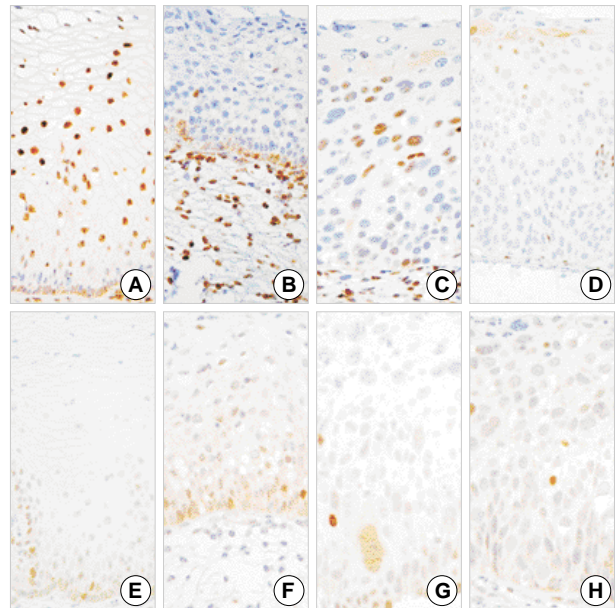


**Fig. 2.** The expression of p63 (B), Ki-67 (C), p27 (D) in microinvasive squamous cell carcinoma (A). (B) p63 shows diffuse immunoreactivity in the full thickness of intraepithelial carcinoma as well as the microinvasive foci. (C) Scattered Ki-67 positive cells are seen in microinvasive nests. (D) A few p27 positive carcinoma cells are present in the microinvasive nests. The stromal cells and inflammatory cells are constantly reactive for p27.

는데, 이 부위에서는 각각 40%와 50% 정도의 세포에서 양성으로 발현하여 대조를 보였다. 또한 간질세포나 침윤된 염증세포의 핵에 항상 양성으로 나타나 내부적인 양성 염색 대조로 활용이 가능하였다(Fig. 3A-D).

### p53의 발현

정상 경부 조직에서 p53의 발현은 내경부선의 원주상피나 중층 편평상피 점막에서 모두 음성이었다. 편평화생에서 소수 기저세포에서 양성을 보였다(Fig. 3E). 경도 이형성증에서 소수의 예에서 드물게 양성인 핵이 관찰되었다(Fig. 3F). 중등도 이형성증(Fig. 3G), 고도 이형성증 및 상피내암의 경우도 약하게 양성인 세포의 수가 증가하였으며, 뚜렷이 양성인 핵을 가진 세포가 일정한 경향이 없이 전 층에서  $3.7 \pm 6.5\%$  정도로 소수 산재되어 나타나서(Fig. 3H) 일정한 기준으로 활용할 수는 없었다. 주변의 내경부 원주세포에서는 1% 미만으로 거의 음성이었다. 미세침윤성 암중에서는 모두 발현하지 않아서, CIN이나 정상 또는 편평상피화생을 보이는 경우와 크게 다르지 않았다. 각화 침윤성 편평세포암중에서는 전 층에서  $15.5 \pm 12.3\%$ 를 비각화 침윤성 편평세포암중에서는  $4.8 \pm 3.8\%$ 를 보였다. p53의 발



**Fig. 3.** Comparison of immunolocalization of p27 (A-D) and p53 (E-H). (A) p27 positive cells are mainly present in the intermediate cell layer in the normal exocervical squamous epithelium. In mild dysplasia (B), moderate dysplasia (C) and CIS (D), the p27 expression is down-regulated in the intermediate cell layer but positive cells are focally scattered in the intermediate (C) and superficial cell layers (D). There are a few p53 positive cells in normal exocervical basal cells (E), mild dysplasia (F), moderate dysplasia (G), and CIS (H).

현은 병변에 따라 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

간질세포나 침윤된 염증세포의 핵에도 음성으로 나타나 내부적인 음성 대조로 활용이 가능하였다.

### 고찰

자궁경부의 상피내종양 중 이형성과 상피내암종의 세포 변화는 질적으로 유사하여 일련의 과정으로 생각되며, 이배수체 핵 DNA 함량을 가진 비정상 편평상피세포의 단클론성 증식이라는 개념이 정립되기 시작하였다.<sup>26</sup> 자궁경부의 상피내종양을 이형성의 정도에 따라 경도 이형성증, 중등도 이형성증, 고도 이형성증, 상피내암종으로 구분하거나, Richart에 의해 제안된 경부 상피내 종양의 분류로 CIN I, II, III로 구분하여 1970년대와 1980년대에 널리 사용하여 왔다.<sup>27</sup> 최근 경부상피내종양과 경부암종의 원인으로 HPV의 동정과 수많은 종류의 HPV가 알려지면서 저위험군과 고위험군 HPV 두가지 군으로 나뉜다. 이에 따라 CIN I을 LSIL로 CIN II와 III를 합하여 HSIL로 구분하

여, 자궁경부 세포진 진단에 사용하는 The Bethesda System의 용어가 세포진단 뿐만 아니라 조직진단에도 사용하는 경우도 있다.<sup>27</sup> 그러나 세포진 진단인 The Bethesda System의 용어를 조직 생검 진단에 바로 사용해야 하는지에 대해서는 아직도 논란이 되고 있어, 세 등급을 계속 사용하자는 의견이 있다.<sup>28</sup> 조직소견상 LSIL은 대개 가시세포증(acanthosis)과 핵의 비정형이 없이 핵 주변으로 세포질에 공포를 보이는 공동세포 변화(koilocytotic change)를 관찰하는 것이 중요하다. 그러나 세포질 내에 현저히 당원을 함유한 경우 정상 화생성 편평상피를 LSIL로 오진할 수도 있다. 다기관 연구에서도 가장 심한 진단의 차이가 LSIL과 반응성 편평상피 증식 간에서 나타났다.<sup>2</sup> Robertson 등<sup>3</sup>은 CIN I과 II를 합하여 저등급(low grade), CIN III를 고등급(high grade)의 두 가지로 구분하기를 주장하기도 하였다. HSIL 진단에서도 미성숙 편평화생이나 위축된 상피를 HSIL로 잘못 진단하기도 한다. 미성숙 편평화생에서는 핵분열상이 보이지만 비정형 핵분열은 없으며, 세포의 극성이 유지되고 세포막이 뚜렷하며 세포의 밀집(crowding)이 현저하지 않다. 미성숙 편평화생에서 핵의 비정형이 보이는 비정형 미성숙 화생(atypical immature metaplasia)이나 비정형을 보이는 수복상피(atypia of repair)인 경우도 HSIL과 감별하기 어렵다.<sup>29</sup> 나이가 많은 여성에서 위축과 HSIL을 감별하기 위해서 에스트로겐을 도포한 후 재생검을 하기도 하지만, Ki-67 면역염색을 이용하면 감별에 도움이 된다. 위축된 상피에는 Ki-67에 매우 적은 수의 세포가 염색되는 반면, 편평상피내병소나 침윤성 편평상피암종의 경우는 강하게 다수의 세포가 염색된다.<sup>11</sup> 자궁경부의 전암병변이나 암종에서 Ki-67에 대한 면역조직화학 염색을 활용한 보고들은 찾아볼 수 있으나, 다른 면역조직화학 염색을 시행한 연구는 드물다.<sup>8,12,23</sup>

저자들은 자궁경부에서 여러 가지 면역조직화학 염색이 실제 외과병리에서 적용 가능할지를 알아보고자 본 연구를 시행하였다. 특히 편치 생검이나 수술적으로 얻은 경부의 상피내종양을 진단하는 데 정확한 판독이 어려운 경우, Ki-67 이외에 p63, p27, p53 등의 면역조직화학 염색을 시행하여 이들의 발현을 관찰하였다. 그리고 자궁경부상피의 어느 층에서 어느 정도의 발현을 보이는지를 관찰하여 분석하였다.

본 연구에 포함된 대부분의 예에서는 HE 염색에서의 판정이 정확하였으나 66예 중 6예, 약 9.1% 정도에서 진단에 논란이 있는 경우가 있었고, 추가적인 면역조직화학 염색의 결과에 따라 진단이 확실해진 경우가 있었다. 6예 중 2예의 경도 이형성증이 정상으로, 2예의 경도이형성증이 편평화생으로, 1예의 중등도 이형성증이 미성숙 편평화생으로, 1예의 고도 이형성증이 중등도 이형성증으로 진단이 조정되었다. 그러므로 조직 상태가 불량하거나 HE 염색만으로는 진단이 모호한 경우 보조적인 면역조직화학 염색은 암종에서보다 LSIL에서 더 유용한 것으로 보인다.

p63은 두경부나 식도, 방광 및 유방병변에서 연구들을 찾아

볼 수 있었으나,<sup>18-20</sup> 자궁 경부에서 암종의 종류에 따른 연구와 상피내 종양에 대한 연구는 별로 없었다.<sup>17,21</sup> 유방병변 진단 시 근상피세포의 표지자로 smooth muscle actin이나 S-100 단백질 등에 대한 면역염색이 이용되고 있는데 p63를 이용하면 면역조직화학 염색 상이 월등하다. 본 연구에서 p63에 대한 면역조직화학적 염색은 Ki-67과 비슷한 성향을 보였지만, 염색성이 더 강하며 기저세포에서부터 핵에 가장 진하고 명확하게 양성을 보이는 특징이 있다. p63의 판정에 주의해야 할 점은 미성숙 편평상피화생의 경우, 중등도 이형성증(CIN II)과 유사하게 보여 반드시 HE 염색을 같이 참고해야 했다. p63은 편평세포의 이형성이나 암종으로의 진행에 따라 발현한다기보다는 편평세포의 분화 정도를 반영하는 표지자로 생각된다. 그러므로 상피내 병소의 정도에 따라 기저세포층에서는 강하게 발현하며 상층으로 올라갈수록 이형성의 정도를 간접적으로 반영하고, 상피내암종인 경우는 표층세포까지 강하게 염색되는 양상을 보였다. 정상경부나 경부암에서 원주세포하에 기저세포층식이 보이거나 미성숙 편평상피화생에서 강하게 발현하지만, 경부선상피에서는 음성이었다. 또한, p63은 상피내 암종에서 분화도를 잘 반영하는 것 외에도 미세침윤성 편평세포암종 4예와 침윤성 편평세포암종 14예에서 시행한 결과, p63은 기저세포에서부터 양성으로 발현하므로 간질로 침습하는 소수의 세포들이나 작은 군집들이 양성으로 나타나 간질의 침습 소견을 쉽게 확인할 수 있었다. 초기의 미세침윤성 암종을 진단하기 위해서는 기저막의 파괴를 보기 위한 d-PAS 염색이나, laminin 또는 type IV collagen에 대한 면역조직화학 염색을 시행하기도 한다. 이와 함께 p63에 대한 면역조직화학적 염색을 시행한 모든 예에서 간질내로 침습된 편평세포성 암종세포들에 강하게 발현하며, 다른 선상피세포, 간질세포 및 주변의 염증세포에는 전혀 발현하지 않음으로써 미세침윤된 암종세포가 간질세포들과 잘 구분되었다. 따라서 본 연구에서 시행한 다른 표지자보다 미세침윤성 편평세포암종이나 침윤성 편평세포암종에서 침습을 확인하는 데 도움이 되었다. 그러나 Wang 등<sup>21</sup>의 연구에서처럼 본 연구에서도 p63에 대한 면역조직화학 염색은 샘암종, 신경내분비 암종에서는 전혀 발현되지 않아서, 분화가 나쁜 샘암종, 신경내분비암종이나 혼합된 암종 등 감별이 어려운 암종에서 편평세포 기원을 감별하는 데 유용한 표지자로 활용이 가능하였다.

증식세포핵항원(PCNA)과 Ki-67 같은 증식기 세포의 표지자를 사용한 연구들<sup>9,13</sup>에서처럼 본 연구에서도 Ki-67 양성세포의 백분율은 경부상피내종양의 정도가 증가될수록 증가되었다. 본 연구에서도 다른 연구<sup>17</sup>에서처럼 대부분 기저세포에서는 Ki-67에 음성이었으며, 방기저세포에서부터 점차 위로 올라가면서 그 수가 감소되었다. 상피내암종(CIS)으로 진단되었던 예에서는 표층에 있는 세포에서도 많은 양성세포들이 관찰되었다. Ki-67은 미세침윤성 편평세포암종 및 침윤성 편평세포암종에서 높은 양성률을 나타내었다. 그러나 Fig. 2C에서 보는 바와 같이 Ki-67에 양성인 상피세포의 소군이나 군집에서 양성으로 발현

되는 핵의 수가 증가하지만, p63과 달리 기저세포에서는 발현하지 않는 경우가 많아서 초기의 미세한 침습 여부를 알아보는 데 다소 미흡하였다. 상피내 샘암종, 침윤성 샘암종이나 혼합 샘편평세포암종에서도 세포의 구분이 없이 강하게 발현하였다.

p27 발현에 대해 정상과 종양성 경부상피에서 시행한 보고에서는 상피성 종양의 발생과 진행 과정에서 p27 발현이 감소하는 것으로 알려져 있다. Huang 등<sup>22</sup>은 자궁경부 상피내종양과 침윤성 암종에 대하여 연구하였는데, 정상 편평상피 55.1%, LSIL 52.8%, HSIL 45.4%였다. 반면, 미세침윤성 편평세포암종에서 15.9%, 침윤성 편평세포암종에서 11.2%로 감소하였다. p27 발현의 하향조절(down-regulation)이 경부상피의 종양성 전환과 연관이 있고 p27의 비활성화는 초기에 일어난다고 주장하였다. 또한, p27 발현의 소실이 림프절 전이와 연관이 있다고 하여 경부암종의 높은 공격성 표현형(highly aggressive phenotype)과 연관된다고 하였다. Shiozawa 등<sup>23</sup>은 경부상피내종양(CIN)과 침윤성 암종에서 면역조직화학 염색을 시행한 결과, 정상 경부상피에서는 중간층과 표층세포에 강하게 발현하는데 경부상피내종양(CIN)인 경우는 p27의 발현이 무시할 만하였고, Ki-67, cdk2, cyclin E와 반대되는 발현양상이 나타났다고 하였다. 그러나 편평세포암종에서는 p27의 발현이 증가하였고, Ki-67, cdk2, cyclin E도 증가하였다. 그러므로 p27은 정상 경부상피의 성장을 조절하며 침윤성 편평세포암종에서는 이상 기능이 나타날 것으로 추정하였다. Tronccone 등<sup>30</sup>은 정상과 종양성 자궁경부상피에서 p27의 발현을 Ki-67과 관련하여 비교한 바, 정상상피에서는 강하게 발현하였으나 상피내종양에서는 감소하였다. 발현의 감소는 LSIL에서 HSIL보다 더 현저하였다. HSIL에서는 기저세포에 발현이 확산되었고, 증식 상태와는 무관하게 발현의 감소를 나타내었다고 하였다. 본 연구에서도 정상 자궁경부상피에서 중간세포층에 주로 발현하였고 CIN에서도 정상보다는 발현이 감소하는 경향을 보였다. 그러나 발현이 감소하는 위치가 층에 따라 일정하지 않았고, CIN의 정도와도 통계적인 연관성을 찾아볼 수는 없었다. 미세침윤성 편평세포암종이나 침윤성 편평세포암종에서도 중간층에 양성으로 분포되는 것이 소실되기는 하였지만, 양성으로 발현하는 세포수는 감소하지 않아 실제 병리 진단에 활용할 가능성은 희박하다고 생각한다. 자궁경부의 종양에서 p27의 역할과 그 발현에 관해서는 면역조직화학적 염색과 함께 분자생물학적 기법을 병행하여 추가적인 연구가 이루어져야 할 것이다.

p53은 세포주기와 세포자멸사를 조절하는 유전자이며 종양억제 유전자로 잘 알려져 있으며, 위장관계의 이형성을 보이는 샘종이나 샘암종에서 높은 비율로 발현한다. 자궁경부의 편평세포암종이나 CIN에서 p53 발현에 관한 연구는 결과가 일정하지 않아,<sup>12,25</sup> Lie 등<sup>12</sup>은 고도의 CIN 169예 중 50예(30%)에서 p53에 국소적으로 발현되는 소견을 관찰하였다. 여러 연구에서 CIN의 상피에서 소수의 양성인 핵을 관찰하였고 CIN의 정도나 HPV와는 무관하게 나타났다.<sup>9</sup> 본 연구에서는 정상 경부 조직에서

p53의 발현은 내경부선의 원주상피나 중층 편평상피세포로 배열된 점막에서 모두 음성이었다. 경도 이형성증에서 소수의 예에서 드물게 양성인 핵이 관찰되었으나, 중등도 이형성증, 고도 이형성증 및 CIS의 경우는 약하게 양성인 세포의 수가 다소 증가하였으며, 양성인 핵을 가진 세포가 일정한 발현 형태 없이 산재하여 다른 보고들과 유사한 결과를 보였다. 미세침윤성 편평세포암종에서는 양성세포들이 전 층에서 소수 관찰되었으나, 역시 CIN이나 정상 또는 편평 상피화생을 보이는 경우처럼 5% 미만이었다. 하지만 각화 침윤성 편평세포암종에서는 전 층에서 15.5±12.3%를 보여 다소 높은 비율이었고, 비각화 침윤성 편평세포암종에서는 4.8±3.8%를 보여 이들의 일정한 상관관계는 없었다( $p>0.05$ ). 그러므로 p53 단백질의 발현은 CIN 진단의 일정한 기준으로 활용할 수는 없었다. p53 단백질의 발현은 주변 내경부 원주세포들에서 1% 미만으로 거의 음성이었고, 간질세포나 침윤된 염증세포의 핵에도 음성으로 나타나 내부적인 음성대조로 활용이 가능하였다.

이상의 결과로 CIN의 진단에 유용하다고 알려진 세포증식 지표인 Ki-67 면역조직화학 염색과 더불어 p63의 면역조직화학 염색을 활용하면, CIN과 미세침윤성 편평세포암종의 정확한 진단을 위한 보조적 수단이 될 수 있고, p63은 미세한 편평세포의 분화를 확인하는 데 유용하므로 분화가 좋지 않은 암종이나 혼합 암종에서 편평세포 분화의 표지자로도 유용하다고 생각한다.

## 참고문헌

1. Ismail SM, Colclough AB, Dinnen JS, *et al.* Observer variation in histopathological diagnosis and grading of cervical intraepithelial neoplasia. *BMJ* 1989; 298: 707-10.
2. Stoler MH, Schiffman M. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. *JAMA* 2001; 285: 1500-5.
3. Robertson AJ, Anderson JM, Beck JS, *et al.* Observer variability in histopathological reporting of cervical biopsy specimens. *J Clin Pathol* 1989; 42: 231-8.
4. Willett GD, Kurman RJ, Reid R, Greenberg M, Jenson AB, Lorincz AT. Correlation of the histologic appearance of intraepithelial neoplasia of the cervix with human papillomavirus types. Emphasis on low grade lesions including so-called flat condyloma. *Int J Gynecol Pathol* 1989; 8: 18-25.
5. Yaziji H, Gown AM. Immunohistochemical analysis of gynecologic tumors. *Int J Gynecol Pathol* 2001; 20: 64-78.
6. Dunton CJ, van Hoesen KH, Kovatich AJ, *et al.* Ki-67 antigen staining as an adjunct to identifying cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecol Oncol* 1997; 64: 451-5.
7. Nucci MR, Castrillon DH, Bai H, *et al.* Biomarkers in diagnostic

- obstetric and gynecologic pathology: A review. *Adv Anat Pathol* 2003; 10: 55-68.
8. Keating JT, Ince T, Crum CP. Surrogate biomarkers of HPV infection in cervical neoplasia screening and diagnosis. *Adv Anat Pathol* 2001; 8: 83-92.
  9. Kruse AJ, Baak JP, de Bruin PC, *et al.* The HS. Ki-67 immunoprecipitation in cervical intraepithelial neoplasia (CIN): a sensitive marker for grading. *J Pathol* 2001; 193: 48-54.
  10. Pirog EC, Baergen RN, Soslow RA, *et al.* Diagnostic accuracy of cervical low-grade squamous intraepithelial lesions is improved with MIB-1 immunostaining. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 70-5.
  11. Bulten J, de Wilde PC, Schijf C, *et al.* Decreased expression of Ki-67 in atrophic cervical epithelium of post-menopausal women. *J Pathol* 2000; 190: 545-53.
  12. Lie AK, Skarsvag S, Skomedal H, Haugen OA, Holm R. Expression of p53, MDM2, and p21 proteins in high-grade cervical intraepithelial neoplasia and relationship to human papillomavirus infection. *Int J Gynecol Pathol* 1999; 18: 5-11.
  13. Maeda MY, Simoes M, Wakamatsu A, *et al.* Relevance of the rates of PCNA, Ki-67 and p53 expression according to the epithelial compartment in cervical lesions. *Pathologica* 2001; 93: 189-95.
  14. Benard J, Douc-Rasy S, Ahomadegbe JC. TP53 family members and human cancers. *Hum Mutat* 2003; 21: 182-91.
  15. Yang A, Kaghad M, Wang Y, *et al.* p63, a p53 homolog at 3q27-29, encodes multiple products with transactivating, death-inducing, and dominant-negative activities. *Mol Cell* 1998; 2: 305-16.
  16. Yang A, Schweitzer R, Sun D, *et al.* p63 is essential for regenerative proliferation in limb, craniofacial and epithelial development. *Nature* 1999; 398: 714-8.
  17. Quade BJ, Yang A, Wang Y, *et al.* Expression of the p53 homologue p63 in early cervical neoplasia. *Gynecol Oncol* 2001; 80: 24-9.
  18. Di Como CJ, Urist MJ, Babayan I, *et al.* p63 expression profiles in human normal and tumor tissues. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 494-501.
  19. Taniere P, Martel-Planche G, Saurin JC, *et al.* TP53 mutations, amplification of P63 and expression of cell cycle proteins in squamous cell carcinoma of the oesophagus from a low incidence area in Western Europe. *Br J Cancer* 2001; 85: 721-6.
  20. Choi HR, Batsakis JG, Zhan F, Sturgis E, Luna MA, El-Naggar AK. Differential expression of p53 gene family members p63 and p73 in head and neck squamous tumorigenesis. *Hum Pathol* 2002; 33: 158-64.
  21. Wang TY, Chen BF, Yang YC, *et al.* Histologic and immunophenotypic classification of cervical carcinomas by expression of the p53 homologue p63: a study of 250 cases. *Hum Pathol* 2001; 32: 479-86.
  22. Huang LW, Chao SL, Hwang JL, Chou YY. Down-regulation of p27 is associated with malignant transformation and aggressive phenotype of cervical neoplasms. *Gynecol Oncol* 2002; 85: 524-8.
  23. Shiozawa T, Shiohara S, Kanai M, Konishi I, Fujii S, Nikaido T. Expression of the cell cycle regulator p27(Kip1) in normal squamous epithelium, cervical intraepithelial neoplasia, and invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix. Immunohistochemistry and functional aspects of p27(Kip1). *Cancer* 2001; 92: 3005-11.
  24. Cheung TH, Lo KW, Yu MM, *et al.* Aberrant expression of p21 (WAF1/CIP1) and p27(KIP1) in cervical carcinoma. *Cancer Lett* 2001; 172: 93-8.
  25. Jeffers MD, Richmond J, Farquharson M, McNicol AM. p53 immunoreactivity in cervical intraepithelial neoplasia and non-neoplastic cervical squamous epithelium. *J Clin Pathol* 1994; 47: 1073-6.
  26. Fu YS, Reagan JW, Richart RM. Precursors of cervical cancer. *Cancer Surv* 1983; 2: 359-82.
  27. Crum CP. Symposium part 1: Should the Bethesda system terminology be used in diagnostic surgical pathology?: point. *Int J Gynecol Pathol* 2003; 22: 5-12.
  28. Schneider V. Symposium part 2: Should the Bethesda system terminology be used in diagnostic surgical pathology?: Counterpoint. *Int J Gynecol Pathol* 2003; 22: 13-7.
  29. Richart RM. Colposcopic studies of cervical intraepithelial neoplasia. *Cancer* 1966; 19: 395-405.
  30. Troncone G, Vetrani A, de Rosa G, Gerbasio D, Palombini L. Cyclin dependent kinase inhibitor p27Kip1 expression in normal and neoplastic cervical epithelium. *J Clin Pathol* 1999; 52: 880-7.