

자궁내막증식증과 암종에서의 AgNOR, PCNA 및 유세포분석기를 이용한 DNA배수체 분석*

이화여자대학교 의과대학 병리학교실
성 순 희

= Abstract =

AgNORs, PCNA, and DNA Ploidy in Endometrial Hyperplasia and Endometrial Carcinoma

Sun Hee Sung

Department of Pathology, College of Medicine, Ewha Womans University

Endometrial hyperplasia(EH) and endometrial carcinoma(EC) vary in their biologic potential, which may be correlated with the histologic grade. Evaluation of cellular kinetics, which may prove to be another measure of predicting biologic behavior. Accessments of AgNORs and PCNA(proliferative cell nuclear antigen) indeces in 33 cases of EH including 16 cases of simple hyperplasia(SH), 8 of complex hyperplasia(CH), and 9 of atypical hyperplasia(AH), and 28 of EC including 7 of grade I, 12 of grade II, and 6 of grade III were performed. The results were as follows : 1. AgNOR counts per glandular cells(Mean SD) were 2.7 ± 0.2 in normal proliferative and 2.3 ± 0.2 in secretory endometrium, and increased to 3.2 ± 0.3 in SH, 3.5 ± 0.3 in CH, to 5.4 ± 0.4 in AH, and finally 6.9 ± 0.5 in endometrioid carcinoma(grade I : 5.8 ± 0.7 , grade II : 6.7 ± 0.6 , grade III : 8.4 ± 0.9). 2. PCNA indeces(percentages of nuclear positive cells of total cells of glands) were 16 ± 14.2 in normal proliferative endometrium and 12 ± 8.1 in secretory endometrium, and increased to 18.4 ± 14.7 in SH, 21.6 ± 17.8 in CH, 36.4 ± 27.4 in AH, and finally 42.1 ± 31.3 in EC(grade I : 38.3 ± 23.2 , grade II : 39.4 ± 25.4 , and grade III : 58.4 ± 35.3). 3. DNA aneuploidy was detected in 4 cases of EC(40%), and tended to be more frequently found in poorer histologic grade. This data suggest that cell kinetic evaluation of EH and EC using AgNORs and PCNA is well correlated with histologic grade. And with the aspect of biologic potential, AH could be regarded as well differentiated EC.

KEY WORDS : Endometrial hyperplasia · Endometrial carcinoma · AgNORs · PCNA · DNA ploidy.

*이 논문은 이화여자대학교 교내연구비지원에 의해 이루어졌음.

서 론

여러 종양 및 증식성 병변에서 세포의 증식정도는 질환의 생물학적 양태(biologic behavior)를 측정하는데 중요한 지표로 이용될 수 있으며 이를 측정하는 방법은 유사분열수를 비롯하여 PCNA(proliferative cell nuclear antigen), Ki 67(MIB-1), bromodeoxy-uridine, 유세포 분석기를 이용한 합성기 분획 등이 있다¹⁾. 자궁내막의 증식성 병변은 전암병변으로서의 중요성을 지니기 때문에 예의 주시해야 하는 질환이다²⁻⁵⁾. 분류의 방법도 다양하나, 최근에 들어서는 Clement, Silverberg 및 Kurman에 의해 단순 증식증, 복합 증식증, 비전형 증식증의 세가지로 분류하는것이 보편적으로 쓰이고 있다^{3,4,6)}. 이중 특히 비전형 증식증은 내막암종의 전구성 병변으로 알려져 있고, 실제 분화가 좋은 내막암종과의 병리조직학적 감별이 어려운 경우가 많이 있다⁶⁾. 자궁내막암종은 자궁체부암의 90%정도를 차지하는 종양으로 서구여성에게 흔하나 우리나라에서도 증가추세에 있다^{3,4)}. 병리학적으로 FIGO 등급체계에 따라 조직학적인 분화도에 기준을 두어 grade I, II, III로 나누나 이 조직학적인 분류가 종양세포의 증식지수들과 상관관계가 어떠한지에 대해서는 연구된 바가 많지 않다⁷⁾. 본 연구에서는 본원 해부병리과에서 자궁소파술 또는 자궁절제술을 통해 얻은 조직중 자궁내막 증식증과 내막암종으로 진단된 예들을 수집하여 이들을 대상으로 자궁내막증식증을 등급에 따라 재분류하고 또한 자궁내막암종도 분화도에 따라 재분류하여 양 질환에서 조직학적 등급별로 AgNOR수치와 PCNA 지수의 차이에 대하여 연구하여 자궁내막의 전암성 병변 및 암종과 증식지수와의 관계를 검증해 보고자 하였다. 아울러 유세포분석기를 이용하여 DNA 배수체를 측정하여 보고자 하였다. 특히 병리조직학적으로 구분이 어려운 비전형 증식과 분화가 좋은 내막암종에서 이러한 증식지수가 어떠한 차이를 보이는지를 알아봄으로서 두질환과의 상관관계에 대해 분석해 보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

이화여자대학교 의과대학 부속병원의 해부병리과에

Table 1. Endometrial tissue studied for AgNORs counts and PCNA index

Histopathological diagnosis	No. of cases
Normal proliferative endometrium	5
Normal secretory endometrium	5
Simple endometrial hyperplasia	16
Complex endometrial hyperplasia	8
Atypical endometrial hyperplasia	9
Endometrial adenocarcinoma	
Grade I (Well differentiated)	7
Grade II (Moderately differentiated)	12
Grade III (Poorly differentiated)	6
Papillary type	3
Total	71

서 진단된 자궁내막의 증식성 병변 33예를 단순 증식증, 복합 증식증, 비전형 증식증으로 나누고 자궁내막의 내막암 암종 약 25예는 분화도에 따라 I, II, III 등급으로 나누었다. 유두형 암종 3예는 따로 분류하였다. 비교대상 조직으로는 정상적인 증식기의 자궁내막조직 5예, 분비기의 자궁내막조직 5예를 이용하였다(Table 1).

2. 방 법

1) AgNOR 염색방법

NORs는 Smith 및 Crocker에 의한 방법으로 파라핀조직 절편을 xylene에 3~5분간 dewax시킨후 ethanol과 증류된 탈이온수에 재수산화 시켰다. AgNORs 용액은 1g/dl 수성 포름산에 젤라틴을 2g/dl 농도로 용해시켜 만들고 이 용액에 50g/dl 수성 질산은 용액을 1 : 2 volume으로 혼합하였다. 이 용액을 조직절편에 떨어뜨려 암실의 실온에 30분간 방치했다가 증류수에 세척한 후 합성매개체로 봉입하였다.

2) PCNA 염색방법

PCNA는 이에 대한 일차 항체인 PC-10(Dako, Carpinteria, U.S.A)을 1 : 100의 비율로 희석시켜 LSAB (Labelled streptavidin biotin complex, Dako)kit를 이용하여 파라핀블록의 절편을 면역조직화학적 염색을 시행하고 AEC(amino-ethyl carbazole, Zymed, San Francisco, CA, U.S.A)를 이용하여 발색하였다.

3) PCNA 및 AgNORs 평가방법

NORs는 1000배 시야에서 oil immersion lens 하에서 검은 점상으로 표현되는 1000개의 선조직 또는 중

양조직의 핵내 AgNOR의 수를 센 후 각 예에 대해 한 세포당 AgNORs의 평균 수를 측정하였다. PCNA지표는 400배 현미경시야를 10부위를 선정하여 시야에 포함된 선조직의 세포를 세어 이들중 양성을 보이는 세포의 수를 백분율하여 수치화하였다.

4) Flow Cytometry를 이용한 DNA함량분석

파라핀블록에서 5 μ m 두께의 절편을 취하여 H-E 염색후 검경하여 DNA 함량분석에 적절한 량의 종양조직이 있는 블록을 선택하였다. 선택한 블록에서 Hedley 등이 제시한 방법에따라 50 μ m 두께의 절편 5~6개를 취하여 탈파라핀과정을 거친후 흡수과정, bare nuclei를 얻기위한 펄스처리, RNA를 제거하기위한 ribonuclease 처리, 그리고 형광염색인 propidium iodide로 염색한후 종양세포의 DNA량을 flow cytometer(FA-CSTAR plus, Becton-Dickinson, D. A)로 측정하여 DNA Histogram을 얻었다. 핵산지수(D.I)는 정상 이배수성 peak의 channel 수(florescence intensity)에 대한 비정상 peak의 channel 수의 비율로 정하였다.

5) 통계학적 분석

결과를 비교분석하기 위해 SAS 프로그램의 1요인분산분석을 이용하였다.

결 과

1. AgNOR 염색결과

AgNOR의 평균갯수는 정상 증식기 내막이 2.7 \pm 0.2(평균 표준편차), 정상 분기기 내막이 2.3 \pm 0.2개였으며 자궁내막증식증에서는 단순 증식증에서 3.2 \pm 0.3, 복합 증식증에서 3.5 \pm 0.3, 비전형 증식증에서는 5.4 \pm 0.4였다. 전체 내막양 암종은 평균 6.9 \pm 0.5개였다(Fig. 1). AgNOR의 개수에 있어서의 차이와 함께 AgNOR의 모양도 큰 차이를 보였는데 정상 내막 및 단순, 복합 증식증에서는 매끈하고 둥글고 뚜렷하며 크기가 고른데 비하여 비전형 및 악성으로 이행할수록 크기의 변이가 심하고 모양도 불규칙해지는 양상이었다. 단순형과 복합형 증식증간의 비교 및 정상 증식기 내막과 이들 증식증간에는 유의한 차이가 없었으나 비전형적 증식증과 이들 증식증간에는 유의한 차이가 있었다($p < 0.01$). 비전형 증식과 내막양 암종간에도 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$). 자궁 내막양 암종에서는 I 등

급인 경우 AgNOR의 평균 갯수가 5.8 \pm 0.7, II등급인 경우는 6.7 \pm 0.6, III등급인 경우는 8.4 \pm 0.9였다. I등급과 III등급의 차이는 통계학적으로 유의하였다($p < 0.01$, Fig. 2). 그러나 비전형 증식과 I등급의 내막양 암종간에는 유의한 차이가 없었다(Fig. 6). 단, 유두상 형

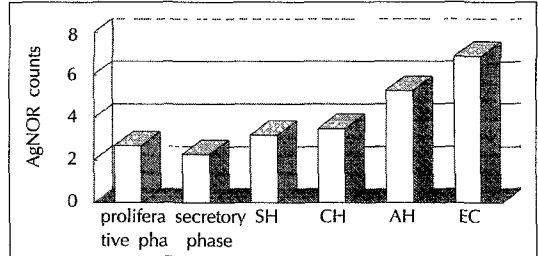


Fig. 1. Comparison of AgNOR counts in normal, hyperplastic endometrium, and endometrial carcinoma. (SH : simple hyperplasia, CH : complex hyperplasia, AH : atypical hyperplasia, EC : endometrial carcinoma)

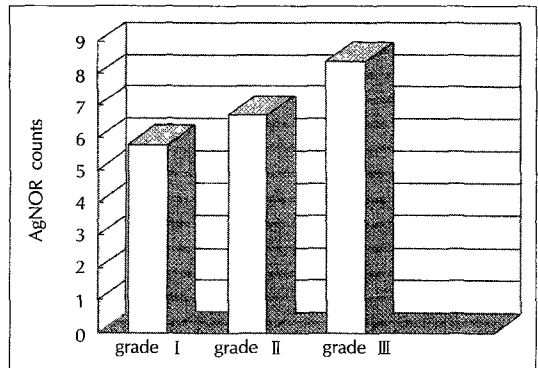


Fig. 2. Comparison of AgNOR counts in endometrial carcinoma according to histologic grade.

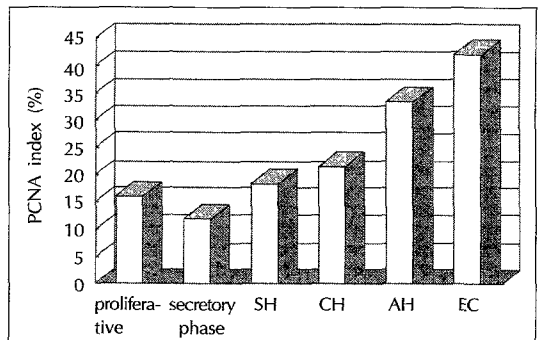


Fig. 3. Comparison of PCNA index in normal, hyperplastic endometrium, and endometrial carcinoma. (SH : simple hyperplasia, CH : complex hyperplasia, AH : atypical hyperplasia, EC : endometrial carcinoma)

은 AgNOR갯수가 3.7 ± 2.8 로 내막양 암중에 비하여 현저히 적었다. 또한 AgNOR의 염색양상이 특이하였는데 모양이 내막양암중에 비하여 훨씬 크고 불규칙한 모양을 보였다.

2. PCNA 염색결과

PCNA 지수(%)는 정상 증식기 내막이 16.0 ± 14.2 (평균 표준편차), 정상 분비기내막이 12.0 ± 8.1 이었으며 내막증식증에서는 단순형이 18.4 ± 14.7 , 복합형 증식증이 21.6 ± 17.8 , 비전형 증식증이 36.4 ± 27.4 이었다(Fig. 3). 내막양 암중증 I 등급은 38.3 ± 23.2 , II 등급

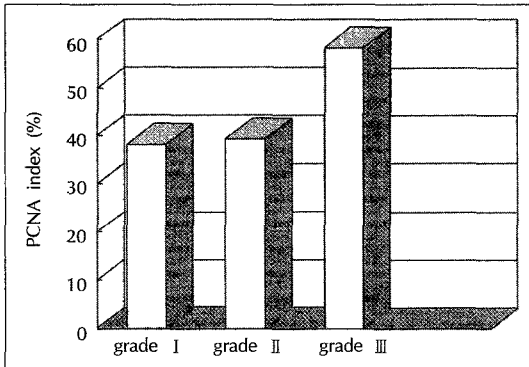


Fig. 4. Comparison of PCNA index in endometrial carcinoma according to the histologic grade.

은 39.4 ± 25.4 , III 등급은 58.4 ± 35.3 (Fig. 4)으로 I 등급과 II 등급간에는 유의한 차이가 없었으나 I 등급과 III 등급간에는 유의하였다($p < 0.05$). 또한 비전형 증식증과 내막양 암중간에는 의미있는 차이가 있었으나($p < 0.05$), 비전형 증식증과 I 등급의 내막양 암중간에는 통계학적으로 유의하지 않았다. 한편 유두형 암중에서는 PCNA 지수가 61.5 ± 18.3 으로 III 등급의 내막양 암중과 비슷하였다(Fig. 7).

3. 유세포분석기를 이용한 DNA 배수체분석

내막양암중 조직의 상태가 좋은 10예(I 등급, 3예, II 등급, 3예, III 등급, 3예, 유두상형, 1예)를 선별하여 시행한 DNA 배수체분석에서 4예가 비배수성을 보였다. 비배수성을 보인 경우는 II 등급, 2예(D.I=1.17, 1.74), III 등급, 1예(D.I=1.50), 유두상형, 1예(D.I=1.68)였다(Fig. 5).

고 안

종양의 세포역동학적인 정보는 조직학적 등급, 병기와 더불어 환자의 예후를 추정하는데 중요한 보조적 수단인 됨이 여러 종양에서 밝혀졌다¹⁾²⁾⁶⁾⁹⁾. 세포증식의 정

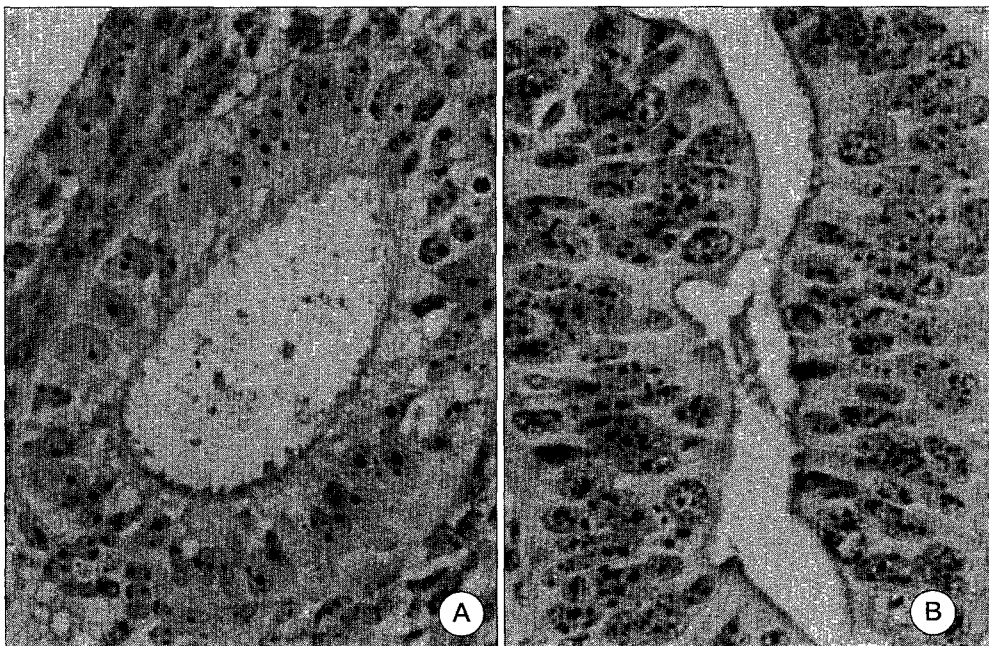


Fig. 5. AgNOR stainings of normal proliferative phase of endometrium(A) and grade II endometrial carcinoma(B). Black dots are markedly increased in carcinoma than proliferative phase of endometrium.

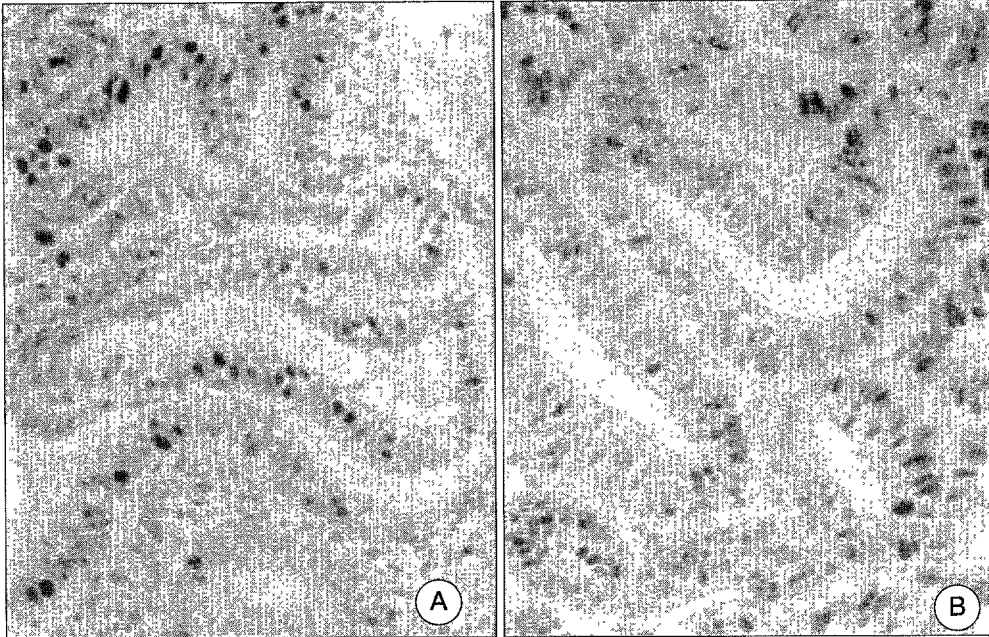


Fig. 6. Immunohistochemical stainings of PCNA in endometrial atypical hyperplasia(A) and grade II endometrial carcinoma.

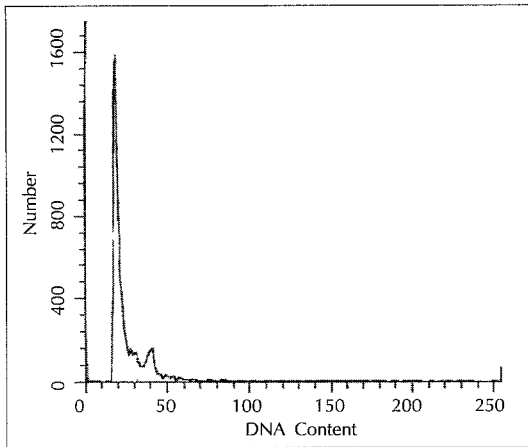


Fig. 7. DNA histogram of a case of poorly differentiated endometrial carcinoma. It shows aneuploidy(D.I.= 1.50).

도 및 악성도를 평가하기 위해 사용할 수 있는 여러 방법중 AgNORs와 PCNA지수가 있다. NORs(Nuclear Organizing Regions)는 리보솜 RNA로 전사하는 rDNA 고리로 세포의 핵내의 핵소체에서 일어나며 리보솜합성에 관여함으로써 세포의 단백질합성을 조절하는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. NORs

는 D-와 G군 acrocentric chromosome의 위성에 있는 제2차 협착부에 위치하고 이는 도은 염색법에 의해 검은 점(AgNORs)으로 나타나게 된다⁽¹¹⁾⁽¹²⁾. 따라서 세포당 나타나는 AgNORs의 수는 세포의 활동성과 증식성에 관계하여 유방암, 방광암, 악성흑색종등 여러 종양에서 악성도와 상관관계가 있어 예후인자로서의 지표로 이용되고 있다⁽¹⁰⁻¹³⁾. 한편 PCNA(Proliferative Cell Nuclear Antigen)는 Miyachi 등에 의해 핵단백질을 밝히기 위한 전신성홍반성 루푸스 환자의 혈청에서 발견한 항체성분으로 이는 진핵 생물의 합성분체합성(eukaryotic leading strand synthesis)의 촉매과정동안 DNA에서 기능하는 효소인 DNA polymerase delta의 보조적인 단백질로 밝혀졌다⁽¹⁴⁾. 복제장소(replication site)와 연관되며 핵내에서 균일하게 전사됨이 증명되었고 또한 세포주기 동안 조절되어 G1 후기에서 시작되어 S기에 최대에 도달한다⁽¹⁵⁾. PC-10은 PCNA를 인지하는 단클론항체로서 파라핀포매조직에서 염색이 가능한 장점이 있어 여러 종양에서 세포증식의 인지인자로 유용할 것으로 기대되고 있으며 특정 종양의 증식력을 측정함으로써 종양의 악성도를 예견하는 지표로서의 사용가치가 제기되고 있다⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾. 본 연구

에서는 자궁내막암의 전암병변으로 잘 알려진 내막증식증의 각 유형과 각 등급의 내막암에서 증식지수를 살펴보는 데 유용한 표지자인 AgNOR과 PCNA 지수를 비교해 봄으로써 세포역동학적인 측면에서 각 병변간의 상관관계를 알고자 하였다. 자궁내막증식증은 증식기에서 점진적인 한 스펙트럼으로 단순형에서 복합형으로 진행하며 비전형증식에서 초기 또는 국소적인 내막양 선암으로 진행되는 것으로 이해되고 있으며 일부에서는 비전형 증식을 내선암종(adenocarcinoma in situ)와 동일시 하기도 하나 자궁내막에서의 in situ 암종의 개념은 아직 확립되지 않았다⁵⁾⁶⁾. 여러 면역조직화학적 연구 및 세포역동학적 연구에서 비전형 증식은 증식증보다는 암종과 더 유사한 결과를 보이는 것이 또한 이를 뒷받침한다⁵⁾¹⁸⁻²⁰⁾. 저자들의 연구결과에 따르면 AgNOR 및 PCNA 지수 모두 정상내막, 단순, 복합 및 비전형 증식증과 내막암종의 일련의 순서에 따라 수치가 높아지는 경향을 보였는데 이는 Brustmann 등, Nielson 등의 연구결과와 일치한다²¹⁻²³⁾. 그러나 내막암종의 경우 종양의 침윤도 또는 병기와 AgNOR과 PCNA 지수의 상관 관계에 대해서는 연구자에 따라 결과가 다양하여 좀 더 많은 증례를 통해 규명해 볼 필요가 있다²³⁾²⁴⁾. 단순 및 복합 증식증과 비전형 증식증간에 의미있는 차이가 있고 비전형 증식증과 1등급의 내막암종간에는 의미있는 차이가 없는 점은 Coumbe 등의 연구결과와 일치되는 것으로 이 두 질환은 종양생물학적인 측면에서 동일하게 취급해야 할 것으로 사료된다²⁵⁾. 내막양 암종의 등급간의 비교에서 I 등급과 II 등급은 PCNA 지수 및 AgNOR 개수에서 의미있는 차이가 없는 반면 II 등급과 III 등급에서는 의미있는 차이를 보여 I, II 등급을 묶어 low grade로, III 등급은 high grade로 이분화하는 것도 유용하리라고 제안한다. AgNOR은 개수의 변화뿐 아니라 형태학적인 측면에서 양성은 모양이 둥글고 크기의 변화가 적고 외형이 뚜렷한 반면 악성으로 진행할수록, 분화도가 나쁠수록 모양이나 크기가 불규칙해짐도 주목할 만한 소견이었다. 유두형 암종은 PCNA지수는 III 등급의 내막양 암종과 차이가 없었으나 AgNOR의 개수와 모양에 있어서는 현저한 차이를 보였는데 이는 유두형 암종이 내막양 암종과 형태학적 소견뿐만 아니라 세포역동학적인 측면에서도 구분됨을 시사한다.

요 약

자궁내막의 증식증과 암종을 각 조직학적 등급별로 나누어 세포역동학적인 측면에서 이들의 상관관계를 규명하고자 파라핀포매조직을 이용하여 AgNOR 염색과 PCNA(proliferative cell nuclear antigen)에 대한 면역조직화학적 검사를 통해 형태계측학적인 방법으로 지수를 구하여 각각을 비교하여 보았으며 유세포 분석기를 이용하여 DNA배수체를 분석하였다.

내막증식증의 각 유형별 및 내막암종의 등급별 AgNOR 수와 PCNA 지수는 정상, 단순형 증식증, 복합형 증식증, 비전형 증식증, 내막암종의 I 등급, II 등급, III 등급의 순으로 일련으로 증가하여 이미 알려진 각 유형의 악성 잠재력과 유의한 상관관계를 보였다. 또한 내막증식증중 비전형 증식증이 다른 유형의 증식증에 비하여 의미있게 증가하였고 오히려 I 등급의 내막양 암종과 유사하여 세포역동학적 측면에서 두질환은 유사하게 간주되어야 할 것이다. 내막양 암종에서는 분화가 나쁜 III 등급이 I, II 등급에 비해 의미있게 증가하여 분화도와 이들 증식지수간에 상관관계가 있는 것으로 해석된다. 또한 내막암종에서 분화도가 나쁠수록 비배수체가 증가하는 경향이 있었다.

References

- 1) Van Dierendonck JH, Wijsman JH, Keijzer R, et al : *C cycle-related staining patterns of anti-proliferating cell nuclear antigen monoclonal antibodies. Comparison with BrdUrd labeling and Ki staining. Am J Pathol 1991 ; 138 : 1165-1172*
- 2) Cohen MB, Waldman FM, Carroll PR, Kerschmann R, Chew K, Mayall BH : *Comparison of five histopathologic methods to assess cellular proliferation in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. Human Pathol 1993 ; 24(7) : 772-778*
- 3) Kurman RJ, Norris HJ : *Endometrial hyperplasia and related cellular change In Kurman RJ. Blaustein's Pathology of the female genital. tract. fourth ed. New York, Springer-Verlag, 1994 : 411-486*
- 4) Silverberg SG : *Hyperplasia and carcinoma of the endometrium Semin Diagn Pathol 1988 ; 5 : 135-153*

- 5) Baak JPA, Wisse-Brekelmans ECM, Fleege JC, et al : *Assessment of the risk on endometrial cancer in hyperplasia, by means of morphological and morphometric features. Pathol Res Pract* 1992 ; 188 : 856-859
- 6) Fox H : *The endometrial hyperplasia. Obstet Gynecol Annu* 1984 ; 13 : 197-209
- 7) Creaseman WT : *Announcement, FIGO stage : 1988 revisions Gynecol Oncol* 1989 ; 35 : 125-127
- 8) Ikeda M, Watanabe Y, Nanjoh T, Noda K : *Evaluation of DNA ploidy in endometrial cancer. Gynecol Oncol* 1993 ; 50 : 25-29
- 9) Rosenberg P, Wingren S, Simonsen E, Stal O, Risberg B, Nordenskjöld B : *Flow cytometric measurements of DNA index and S-phase on paraffin-embedded early stage endometrial cancer : An important prognostic indicator. Gynecol Oncol* 1989 ; 35 : 50-54
- 10) Lipponen PK, Eskelinen MJ : *Cell proliferation of transitional cell bladder tumors determined by PCNA/cyclin immunostaining and its prognostic value. Br J Cancer* 1992 ; 66 : 171-176
- 11) Leong AS, Gilham HT : *Silver staining of nucleolar organizer regions in malignant melanoma and melanotic nevi. Hum Pathol* 1989 ; 20 : 257-262
- 12) Mauri MF, Fibbi ML, Lore V, et al : *Evaluation nucleolar organizer region associated proteins in endometrial pathology. Histol Histopathol* 1991 ; 6 : 531-534
- 13) Raymond WA, Leong AS : *Nucleolar organizer regions relate to growth fractions in human breast carcinoma. Hum Pathol* 1989 ; 20 : 741-746
- 14) Miyachi K, Fritzlér MJ, Tan EM : *Autoantibody to a nuclear antigen in proliferative cells. J Immunol* 1978 ; 121 : 2228-2234
- 15) Penneys NS, Bogaert M, Serfling U, Sisto M : *PCNA expression in cutaneous keratinous neoplasms and verruca vulgaris. Am J Pathol* 1992 ; 141 : 2-10
- 16) Woods AL, Hall PA, Shepherd NA, et al : *The assessment of proliferating cell nuclear antigen(PCNA) immunostaining in primary gastrointestinal lymphomas and its relationship to histological grade. S+G 2+M phase fraction(flow cytometric analysis) and prognosis. Histopathology* 1991 ; 19 : 21-27
- 17) Yu CC-W, Hall PA, Fletcher CDM, et al : *Haemangiopericytomas : The prognostic value of immunohistochemical staining with a monoclonal antibody to proliferating cell nuclear antigen(PCNA). Histopathol* 1991 ; 19 : 29-33
- 18) Ferency A, Gelfand M : *The biologic significance of cytologic atypia in progesterone-treated endometrial hyperplasia. Am J Obst Gynecol* 1989 ; 160 : 126-131
- 19) Morris WP, Griffin NR, Wells M : *Patterns of reactivity with the monoclonal antibodies HMFG1 and HMFG2 in normal endometrium, endometrial hyperplasia and adenocarcinoma* 1989 ; 15 : 179-186
- 20) Söderström KO : *Lectin binding to human endometrial hyperplasia and adenocarcinoma. Int J Gynecol Pathol* 1987 ; 6 : 356-365
- 21) Brustmann H, Riss P, Naudé S : *Nucleolar organizer regions as markers of endometrial proliferation : A study of normal, hyperplastic, and neoplastic tissue. Hum Pathol* 1995 ; 26 : 664-667
- 22) Nielsen AL, Nyholm HCJ, Engel P : *Expression of MIB-1(Paraffin Ki-67) and AgNOR morphology in endometrial adenocarcinomas of endometrioid type. Int J Gynecol Pathol* 1994 ; 13(1) : 37-44
- 23) Nielsen AL, Nyholm HCJ : *Proliferating cell nuclear antigen in endometrial adenocarcinomas of endometrioid type correlated with histologic grade, stage, previous hormonal treatment, and survival. Hum Pathol* 1993 ; 24 : 1003-1007
- 24) Wikinson N, Buckley CH, Chawner L, et al : *Nucleolar organizer regions in normal, hyperplastic, and neoplastic endometria. Int J Gynecol Pathol* 1990 ; 9 : 55-59
- 25) Coumbe A, Mills BP, Brown CL : *Nucleolar organizer regions in endometrial hyperplasia and neoplasia. Path Res Pract* 1990 ; 186 : 254-259
- 26) Sasano H, Comerford J, Wilkinson DS, Schwartz A, Garrett CT : *Serous papillary adenocarcinoma of the endometrium : Analysis of proto-oncogene amplification, flow cytometry, estrogen and progesterone receptors, and immunohistochemistry. Cancer* 1990 ; 65 : 1545-1551