

비소세포 폐암종에서 E-cadherin,
matrix metalloproteinase, vascular
endothelial growth factor의 발현

연세대학교 대학원

의 학 과

송 지 선

비소세포 폐암종에서 E-cadherin,
matrix metalloproteinase, vascular
endothelial growth factor의 발현

지도 정 순 희 부교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2000년 7월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

송 지 선

송지선의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 정 순 희 인

심사위원 이 광 각 인

심사위원 성 기 준 인

연세대학교 대학원

2000년 7월 일

감사의 글

먼저 모든 것을 주관하시는 하나님께 감사드립니다. 본 논문의 시작부터 열매를 맺기까지 아낌없는 관심과 세심한 지도 편달을 하여주신 정순희 부교수님께 진심으로 감사드립니다. 또한 본 논문을 준비하는 동안 많은 관심과 지도를 하여주신 이광길 교수님과 성기준 교수님께 감사를 드립니다. 본 연구에 정진할 수 있도록 지속적인 이해와 협조를 해주신 병리학교실의 여러 교수님들과 의국원들, 병리과 가족들 모두에게 감사를 드립니다. 끝으로 오늘에 이르기까지 언제나 사랑과 격려를 주신 부모님과 시부모님, 그리고 멀리서도 힘이 되어주고 세심한 사랑과 도움을 아끼지 않은 남편과 예쁘고 건강하게 자라준 딸 소예에게도 사랑과 감사의 마음을 전합니다.

저자 씀

차 례

그림 차례	iii
표 차례	iv
국문요약	v
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	4
1. 재료	4
2. 방법	4
가. 임상 정보	4
나. 병리조직학적 검색	4
다. 면역조직화학염색	5
라. 면역조직화학염색의 판독	5
마. 통계학적 분석	6
III. 결과	7
1. 임상 소견	7
2. 병리학적 소견	7
3. 면역조직화학염색 결과	7
가. 조직학적 유형과 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 비교	8
나. 조직학적 분화도와 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 비교	8
다. 종양의 크기와 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 비교	12
라. 림프질 전이 유무와 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 비교	12
마. 임상 병기와 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 비교	13
바. 생존율과 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 비교	14
사. E-cadherin, MMP-2, VEGF 상호간 관련성의 통계학적 분석 결과	14
IV. 고찰	15
V. 결론	20
참고 문헌	22
영문 요약	28

그림 차례

그림 1. E-cadherin에 대한 면역조직화학염색 소견	9
그림 2. MMP-2에 대한 면역조직화학염색 소견	10
그림 3. VEGF에 대한 면역조직화학염색 소견	11
그림 4. 비소세포 폐암종에서 MMP-2의 발현에 따른 생존율 곡선	14

표 차례

표 1. E-cadherin, MMP-2, VEGF의 면역조직화학적 발현의 결과	8
표 2. 조직학적 유형과 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 상관관계	8
표 3. 조직학적 분화도와 E-cadherin, MMP, VEGF 발현의 상관관계	12
표 4. 종양의 크기와 E-cadherin, MMP, VEGF 발현의 상관관계	12
표 5. 림프절 전이 유무와 E-cadherin, MMP, VEGF 발현의 상관관계	13
표 6. 임상 병기와 E-cadherin, MMP, VEGF 발현의 상관관계	13

국 문 요 약

비소세포 폐암종에서 E-cadherin, matrix metalloproteinase, vascular endothelial growth factor의 발현

암의 침습과 전이는 여러 단계의 과정이 필요하고 또 각 단계에 영향을 주는 요인들도 다양하다. 암종 침습의 초기 단계에는 상피세포 부착 물질인 E-cadherin이 관여하고, 서로 분리된 암세포가 침습하기 위해 기저막과 세포외 기질을 분해하는 단계에는 matrix metalloproteinase(MMP)와 같은 단백 분해 효소가 관여하며, 암세포가 성장하고 전이하는데 있어서 중요한 암의 신생혈관형성에는 vascular endothelial growth factor(VEGF)가 관여하는 것으로 알려져 있다. 폐암종에서 이들의 역할은 부분적으로 연구되어 있는데, VEGF 발현율이 높은 경우 높은 미세혈관 밀도와 림프절 전이, 임상 병기, 재발을 및 생존율 등과 상관이 있다는 보고가 있어서 예후인자로서의 가능성이 제시되었다. E-cadherin, MMP, VEGF 각각에 대하여 식도, 피부, 대직장, 유방, 난소, 방광, 전립선 등의 암에서 연구된 것이 산발적으로 보고되었고, 폐암종에서도 각각에 대하여 연구된 것은 있으나 이들을 암의 침습과 전이의 단계를 알아보기 위하여 연구된 것은 없다. 따라서 본 연구에서는 비소세포 폐암종에서 이들 인자의 발현과 병리학적 및 임상적 변수와의 연관성을 조사하여 종양의 침습과 전이의 각 단계에서 이들 인자의 역할과 상호 관련성 및 예후인자로서의 의미를 알아보고자 하였다.

본 연구는 연세대학교 원주의과대학 부속 원주기독병원에서 외과적으로 절제된 90예의 비소세포 폐암종을 대상으로 E-cadherin, MMP-2, VEGF에 대한 면역조직화학염색을 시행하여 종양의 조직학적 유형, 분화도, 크기, 림프절 전이의 유무, 임상 병기 및 생존율과의 연관성을 조사하였다. 환자의 평균연령은 59.7세였고, 조직학적 유형은 편평상피암종이 56예, 선암종이 34예였다. E-cadherin에 대한 면

역조직화학염색은 67예(74.4%)가 양성반응을 보였다. 조직학적 유형은 선암종(82.4%)에서 편평상피암종(69.6%)보다 발현율이 높았으나 통계학적으로 유의한 차이는 없었고, 분화도, 크기, 림프절 전이 유무, 임상 병기, 생존율과는 관련이 없었다. MMP-2에 대한 면역조직화학염색은 43예(47.8%)가 양성반응을 보였고, 특히 주변 조직으로 침습하는 종양세포에서 강하게 염색되었다. 또한 추적관찰이 가능한 35예에서 MMP-2 양성군의 생존율이 음성군에 비해 통계학적으로 유의하게 낮았다($p < 0.05$). 조직학적으로 선암종에서 편평상피암종보다 MMP-2의 발현율이 높았고, 저분화도, 종양의 크기가 3 cm 이상, 림프절 전이가 있는 군과 병기가 IIIA, IIIB인 군에서 발현율이 높은 경향을 보였으나 통계학적 유의성은 없었다. VEGF에 대한 면역조직화학염색은 34예(37.8%)가 양성반응을 보였는데, 저분화도, 림프절 전이가 있는 군과 임상 병기가 높은 군에서 VEGF의 발현율이 증가하는 경향을 보였으며, 특히 림프절 전이가 있는 군은 전이가 없는 군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 보였다($p < 0.05$).

이상의 결과로 보아 비소세포 폐암종에서 MMP-2와 VEGF의 발현은 예후인자로서 의의가 있고, VEGF는 비소세포 폐암종의 전이에 관여하는 것으로 생각된다.

핵심되는 말 : 비소세포 폐암종, E-cadherin, matrix metalloproteinase, vascular endothelial growth factor, 전이 단계, 예후인자

비소세포 폐암종에서 E-cadherin, matrix metalloproteinase, vascular endothelial growth factor의 발현

<지도 정 순 희 부교수>

연세대학교 대학원 의학과

송 지 선

I. 서론

암세포가 주변조직으로 침습하고 전이하기 위해서는 여러 단계의 과정이 필요하다. 각 단계마다 관여하는 물질들은 매우 다양하며, 최근 분자생물학적 연구기법이 발달함에 따라 암종의 침습성과 전이성의 획득에 관여하는 유전자와 유전자 산물들이 발견되었고, 이러한 물질들의 역할과 기전을 밝히고자 많은 연구들이 진행되고 있다.¹ 상피암종의 종양 세포가 세포외 기질로 침습하기 위해서는 먼저 종양 세포들끼리 분리되어야 한다. 세포간 또는 세포와 기질간의 상호작용에 관여하는 물질은 integrin, cadherin, immunoglobulin superfamily와 selectin의 4가지 군이 알려져 있고 이 중 cadherin은 칼슘 의존성 세포간 유착 당단백질로 분자적 구조와 특성에 따라 신경성(N-cadherin), 태반성(P-cadherin), 근육성(M-cadherin), 망막성(R-cadherin) 등이 있다. E-cadherin은 거의 모든 상피세포에 존재하여 정상적인 세포간 유착과 상피 조직의 구조적 유지에 가장 중요한 역할을 한다. 암세포에서 정상 상피세포에 비해 세포간 접착력이 감소된다는 연구결과가 있고,^{2,3} 대장과 유방을 포함하는 여러 장기의 암종에서 그 발현이 하향 조절되어 있다는 보

고들이 있다.^{4,5} 또한 E-cadherin 발현의 감소가 대직장암, 방광암, 식도암, 전립선암, 비소세포 폐암 등 여러 종양에서 분화도, 침습성, 전이 유무와 연관이 있을 것이라는 주장이 제시되었다.⁶⁻¹¹

서로 분리된 종양 세포가 기저막과 세포의 기질을 통과하기 위해서 효소적 분해과정이 필요한데, 암세포는 자체적으로 단백 분해 효소를 분비하거나 섬유모세포나 대식세포와 같은 숙주의 세포에서 단백 분해 효소를 분비하도록 유도한다.⁵ 단백 분해 효소 중 matrix metalloproteinase(MMP)는 16가지 정도의 다른 유형이 존재하는데 그 중 하나인 MMP-2는 상피 세포와 혈관의 기저막의 주된 성분인 제4형 콜라겐을 선택적으로 분해하는 효소이다. MMP는 잠재형으로 분비되어 세포의 활성화 과정을 필요로 하며, 활성화된 MMP는 단백 분해 억제제와 복합체를 형성함으로써 활성도가 조절된다.¹² 침습하고 있는 종양의 가장자리에는 단백 분해 효소와 단백 분해 억제제의 균형이 깨져 단백 분해효소의 활성이 증가되어 있다.⁵ 대장암, 피부암, 폐암 등을 비롯한 여러 암종에서 MMP의 발현율이 높은 경우 종양의 전이와 림프절 전이율이 높고, 예후가 좋지 않다는 보고들이 있고,¹³⁻¹⁶ 단백 분해 억제제인 tissue inhibitor of metalloproteinase(TIMP)는 발현율이 높은 경우 종양의 국소적 침습을 억제하고 전이하기까지의 진행을 지연시킨다는 동물 실험 결과가 보고되어 있다.¹⁷

원발 종양이 신생혈관을 생성하는 능력은 종양의 성장과 전이에 매우 중요한 역할을 한다. 종양은 신생혈관형성을 통해서 성장에 필요한 영양분을 쉽게 얻을 수 있으며, 다른 장기로 전이할 수 있는 경로에 쉽게 도달할 수 있기 때문이다. 혈관 형성에 관여하는 인자 중에서 vascular endothelial growth factor(VEGF) family는 VEGF, VEGF-B, VEGF-C와 placental growth factor로 분류되며 각각이 고유의 기능을 수행함으로써 발생 초기에서의 혈관 형성과 신생혈관의 성장에 중심적인 역할을 한다.⁵ VEGF는 거대 분자의 혈관 투과성을 높이고, 혈관내피세포의 강력한 유사분열인자일 뿐 아니라¹⁸ 혈관내피세포의 이동과 혈관의 내강 구조 형성을 증가시키며,¹⁹ 분화된 혈관 상태를 유지시키기 때문에²⁰ 종양의 신생혈관 형성과 함께 만성 염증과 상처 치유과정을 촉진하는데도 관여하는 물질로 알려져 있다. 신장암과 방광암, 난소암, 유방암 등에서 정상보다 VEGF mRNA의 발

현이 높다는 보고가 있고,²¹⁻²³ 폐암종을 비롯한 여러 암종에서 VEGF 발현율은 조직학적 분화도, 높은 미세혈관 밀도와 림프절 전이, 임상 병기, 재발을 및 생존율 등과 상관이 있다는 보고들이 있어서 VEGF의 발현이 예후 추정 인자로서의 가능성이 있음이 제시되고 있다.²⁴⁻³¹

폐암종은 침습성과 전이성이 매우 높은 종양으로 매년 유병율이 증가하고 있으며 사망률이 높다. 폐의 소세포암종은 진단 당시 이미 다른 장기에 전이가 되어 있는 성장 속도가 빠른 미분화 암종이지만, 비소세포 암종은 병기가 IIIA 이하인 경우 수술로써 치료하는 것이 원칙이나 편평상피세포암종과 선암종의 전이 양상은 서로 다르기 때문에 이러한 차이에 대한 발생 기전을 알아보려고 하는 연구가 진행되어 왔다. 비소세포 폐암종은 수술 후에도 다른 암종에 비해 예후가 좋지 않기 때문에 수술 후 예후를 예측하고 화학요법이나 방사선 치료와 같은 보조 치료의 여부를 결정하는데 도움이 되는 인자들에 대한 연구가 중요시되고 있다. 폐암종의 발생기전에 관여하고 예후에 영향을 줄 수 있는 물질들로 ras 유전자, rb, myc, HER2/neu 등과 같은 발암유전자 또는 종양억제유전자와³² 3p 염색체 이상³³이 기술되었으며, 세포 주기 조절에 관여하는 인자인 cyclin 계열 단백질과 cycline dependent kinase 등이 알려져 있다.³⁴ 이와 더불어 이미 발생한 종양의 잠재된 침습성과 전이성은 수술로 종양을 제거한 후에도 환자의 예후에 영향을 미칠 수 있다는 점에서 중요한데, 종양의 침습과 전이의 각 단계에 관여하는 E-cadherin, MMP, VEGF에 대한 연구는 여러 장기에서 각각 산발적으로 진행되고 있고, 폐암종에서도 각각에 대하여 연구된 것은 있으나 암의 침습과 전이의 단계를 알아보기 위하여 연구된 것은 없다.

따라서 본 연구는 암의 전이 과정 중 종양세포의 부착에 관여하는 물질인 E-cadherin, 기저막과 세포외 기질의 단백 분해 효소인 MMP와 신생혈관 형성에 관여하는 VEGF의 역할을 고려하여, 외과적으로 절제한 비소세포 폐암종에서 E-cadherin, MMP, VEGF에 대한 면역조직화학적 발현율과 종양의 조직학적 유형, 분화도, 크기, 림프절 전이의 유무 및 환자의 생존율 등의 병리학적 및 임상적 변수와의 연관성을 조사하여 비소세포 폐암종의 침습과 전이의 각 단계에서 이들의 역할과 상호 관련성을 알아보고 예후인자로서의 의의를 알아보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1986년부터 1999년까지 연세대학교 부속 원주의과대학 원주기독병원에서 수술 전에 화학 요법이나 방사선 조사를 받지 않은 상태에서 외과적으로 절제한 90 예의 비소세포 폐암종 조직을 이용하였다. 조직학적 유형은 편평상피암종과 선암종이 포함되었으며 그 외의 유형은 표본수가 적어 통계 처리에 부적합하여 본 연구에서 제외하였다.

2. 방법

가. 임상 정보

환자의 병리 진단지와 임상 기록지를 검토하여 환자의 연령, 성별, 종양의 크기를 조사하고 American Joint Committee on Cancer (AJCC, 5th ed.) 기준에 따라 병기를 정하였다.

나. 병리조직학적 검색

파라핀 포매 조직을 5 μm 두께로 박절하여 hematoxylin-eosin염색을 시행한 슬라이드를 모두 광학 현미경으로 검색하여 조직학적 유형과 분화도, 림프절 전이 유무를 재확인하고 각 예에서 종양조직과 정상 폐조직이 함께 포함된 한 개의 대표적인 파라핀 블록을 선택하였다.

조직학적 유형은 편평상피암종과 선암종으로 구분하였고 조직학적 분화도에 따라 고분화, 중분화, 저분화로 분류하였다. 편평상피암종은 종양세포의 세포간교 (intercellular bridge), 케라틴 형성, 그리고 핵의 이형성의 정도에 따라 분화도를 고, 중, 저로 구분하였고, 선암종은 선강, 유두상 구조 및 세포질 내 점액의 형성,

그리고 핵의 이형성을 기준으로 분화도를 고, 중, 저로 구분하였다. 한 슬라이드에서 다양한 분화도가 있는 경우는 가장 나쁜 분화도를 기준하여 판정하였다.

다. 면역조직화학염색

E-cadherin, MMP, VEGF에 대한 면역조직화학염색의 일차 항체는 단일 클론 항체인 E-cadherin (Neomarker, Fremont, CA, USA), MMP-2 (Zymed, San Francisco, USA), VEGF (Pharmingen, San Diego, CA, USA)를 각각 1:100, 1:100, 1:50으로 희석하여 사용하였다.

선택한 파라핀 블록을 5um 두께로 박절하여 poly-L-lysine-coated slides 위에 부착시키고 60 °C에서 2시간 건조시켰다. 탈파라핀과 재수화를 시키고 수세한 후 pressure cooker를 이용하여 microwave(750W)에 5분간 3회 가열하고 20분간 pressure cooker 안에 유지시켰다. 3% hydrogen peroxide/methanol에 10분 동안 처리하여 내인성 과산화 효소를 억제하였다. 증류수에 세척하고 Tris buffer에 10분간 수세하였다. 일차 항체를 각각 실온에서 하루 밤 동안 반응시키고 결합이 안된 항체를 Tris buffer에 10분간 수세하였다. 이차 항체에 30분간 반응시킨 후 Tris buffer에 10분간 수세하였다. AEC(3-amino-9 ethylcarbazole)에 6분간 발색한 후 흐르는 물에 세척하고 hematoxylin으로 염색한 다음 다시 흐르는 물에 세척하고 발삼으로 봉합하였다.

라. 면역조직화학염색의 판독

E-cadherin은 종양세포의 세포막을 따라 염색되는 것을 양성으로 하였고 MMP-2와 VEGF는 종양세포의 세포질에 염색되는 것을 양성으로 하였다. 발현 정도를 객관화하기 위해 염색이 되지 않은 것은 0점, 그리고 염색 강도가 강할수록 1, 2, 3점으로 구분하고, 염색된 종양세포의 백분율에 따라 0%는 0점, 25% 이하는 1점, 26%에서 50%는 2점, 50% 이상일 때 3점으로 하여 염색 강도와 양성인 종양세포의 백분율에 대한 점수를 합산한 다음 2점 이하인 경우를 음성, 3점 이상

인 경우를 양성으로 하였다.³⁵

마. 통계학적 분석

E-cadherin, MMP-2, VEGF에 대한 면역조직화학염색 결과와 기존의 예후인자인 종양의 크기, 림프절 전이 유무, 병기와의 관계와 E-cadherin, MMP-2, VEGF 상호간의 연관성에 대해서 SPSS 프로그램을 통해 카이 제곱 검정으로 조사하였다. 또한 추적관찰이 가능한 35예의 생존율과 E-cadherin, MMP-2, VEGF의 발현간의 연관성을 Kaplan-Meier 분석으로 조사하였다. p값이 0.05 이하인 경우를 통계학적으로 의미가 있다고 보았다.

III. 결과

1. 임상 소견

총 90예 중 환자의 연령은 37세부터 80세까지였으며 평균 59.7세였다. 연령별로는 30대가 2예, 40대가 14예, 50대가 30예, 60대가 28예, 70대가 16예로 50대와 60대에서 가장 많았다. 성별로는 남자가 68예(75.6%), 여자가 22예(24.4%)로 남녀 성비는 3.1:1이었다. American Joint Committee on Cancer (AJCC, 5th ed.) 기준에 따라 병기 IA와 IB는 29예(32.2%), IIA와 IIB는 23예(25.6%), IIIA는 26예(28.9%), IIIB는 12예(13.3%)였다. 90예 중 35명에서 추적관찰이 가능하였다.

2. 병리학적 소견

조직학적 유형은 편평상피암종이 56예(62.2%), 선암종이 34예(37.8%)였는데 선암종에는 편평상피선암종(3예)과 대세포암종과의 혼합형(1예)이 포함되었다. 조직학적 분화도에 따라서는 고분화 및 중분화가 64예(71.1%), 저분화가 26예(28.9%)였다. 종양의 크기는 3 cm 미만이 29예(32.2%), 3 cm 이상이 61예(67.8%)였다. 림프절 전이가 없는 예가 46예(51.1%), 림프절 전이가 있는 예는 44예(48.9%)였다.

3. 면역조직화학 염색 결과

E-cadherin은 67예(74.4%), MMP-2는 43예(47.8%), VEGF는 34예(37.8%)에서 양성반응을 보였다(표 1). E-cadherin은 특징적으로 종양 세포의 세포막에 염색되었고(그림 1), MMP-2는 종양 세포의 세포질에 염색되었고, 특히 작은 소를 형성하며 주변 조직으로 침윤하는 종양세포에 강하게 염색되었으며(그림 2), 간질 내 섬유모세포와 혈관 내피세포에 양성 반응을 보인 예들도 있었다. VEGF에 양성반응을 보인 예는 종양 세포의 세포질에 염색되었다(그림 3).

표 1. E-cadherin, MMP-2, VEGF의 면역조직화학적 발현의 결과

면역표지자 \ 결과	양성 (%)	음성 (%)
E-cadherin (n=90)	67 (74.4)	23 (25.6)
MMP-2 (n=90)	43 (47.8)	47 (52.2)
VEGF (n=90)	34 (37.8)	56 (62.2)

n: 전체수

가. 조직학적 유형과 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 비교

편평상피암종 56예 중 E-cadherin은 39예(69.6%), MMP-2는 24예(42.9%), VEGF는 21예(37.5%)에서 양성 반응을 보였고, 선암종 34예 중 E-cadherin은 28예(82.4%), MMP-2는 19예(55.9%), VEGF는 13예(38.2%)에서 양성 반응을 보여 E-cadherin, MMP-2, VEGF 모두 선암종에서 편평상피암종보다 더 높은 발현율을 보였으나 통계학적 유의성은 없었다($p>0.05$)(표 2).

표 2. 조직학적 유형과 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 상관관계

면역 표지자 \ 조직학적 유형	E-cadherin(%)	MMP-2(%)	VEGF(%)
편평상피암종 (n=56)	39 (69.6)	24 (42.9)	21 (37.5)
선암종 (n=34)	28 (82.4)	19 (55.9)	13 (38.2)

n: 전체수

나. 조직학적 분화도와 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 비교

고-중분화도를 보인 64예 중 E-cadherin은 45예(70.3%), MMP-2는 28예(43.8%), VEGF는 23예(35.9%)에서 양성 반응을 보였고, 저분화도를 보인 26예 중 E-cadherin은 22예(84.6%), MMP-2는 15예(57.7%), VEGF는 11예(42.3%)에서 양성 반응을 보여 E-cadherin, MMP-2, VEGF 모두 저분화도를 보인 예에서 고-중분화도보다 높은 발현율을 보였으나 통계학적 유의성은 없었다($p>0.05$)(표 3).

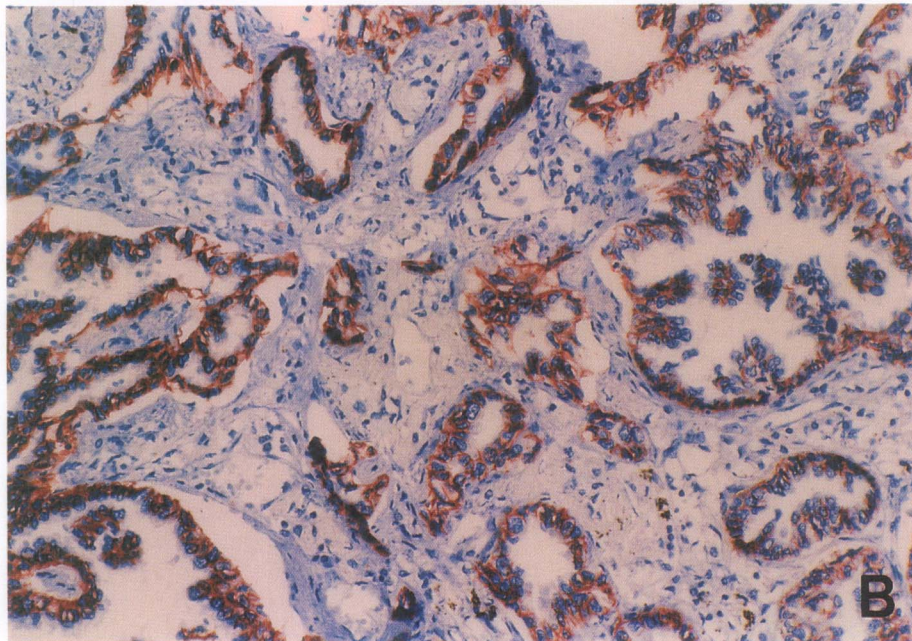
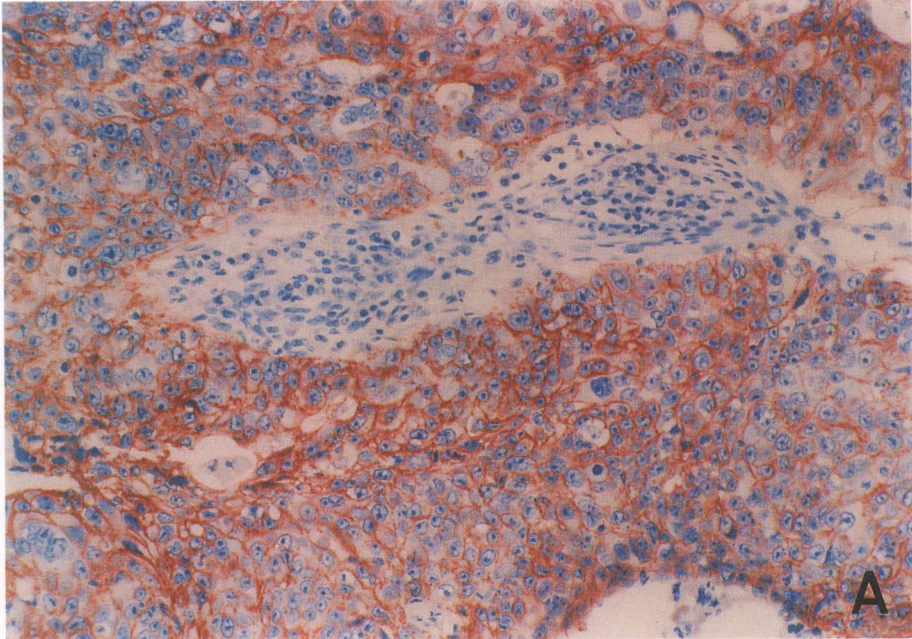


그림 1. E-cadherin에 대한 면역조직화학염색 소견. 편평상피암종(A)과 선암종(B)에서 종양세포의 세포막을 따라 양성 반응을 보임(H-E 염색, x 200).

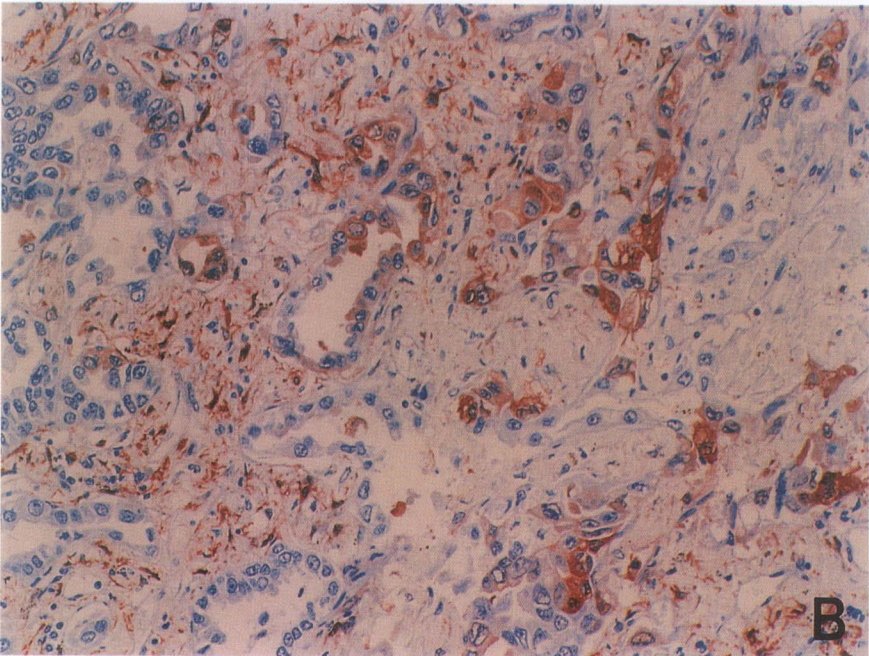
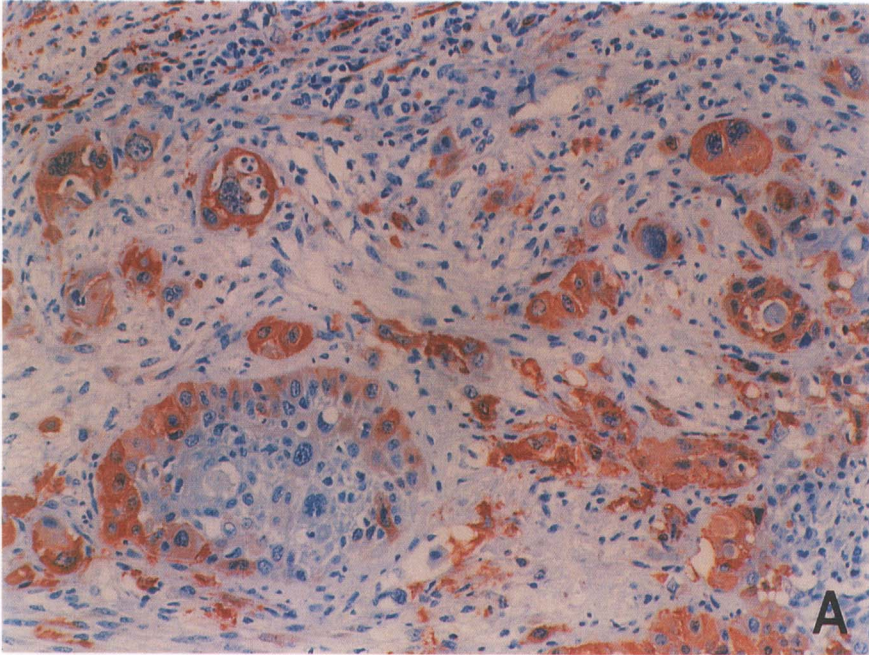


그림 2. Matrix metalloproteinase-2에 대한 면역조직화학염색 소견. 편평상피암종 (A)과 선암종(B)에서 작은 소를 형성하며 간질로 침습하는 종양세포의 세포질에 양성 반응을 보임(H-E 염색, x 200).

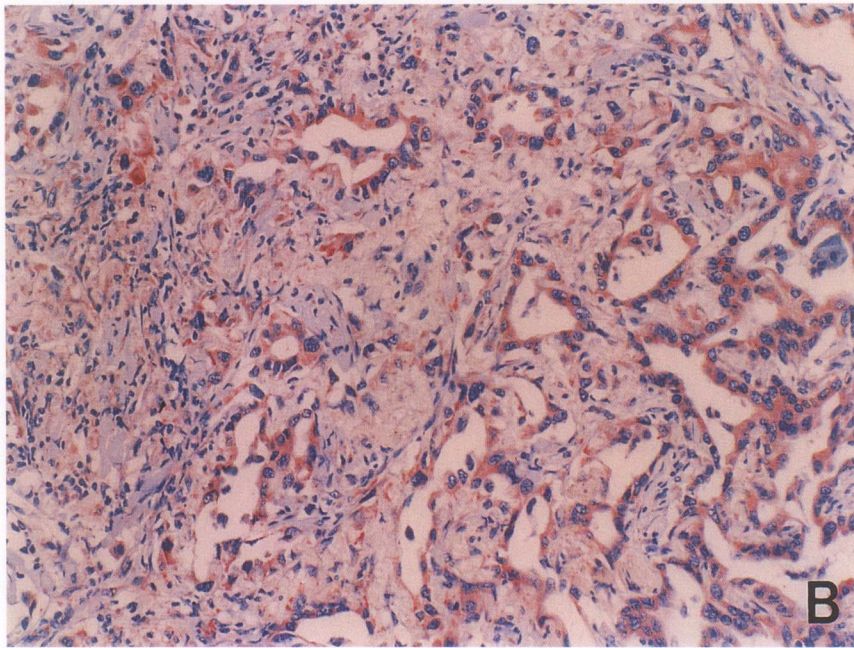
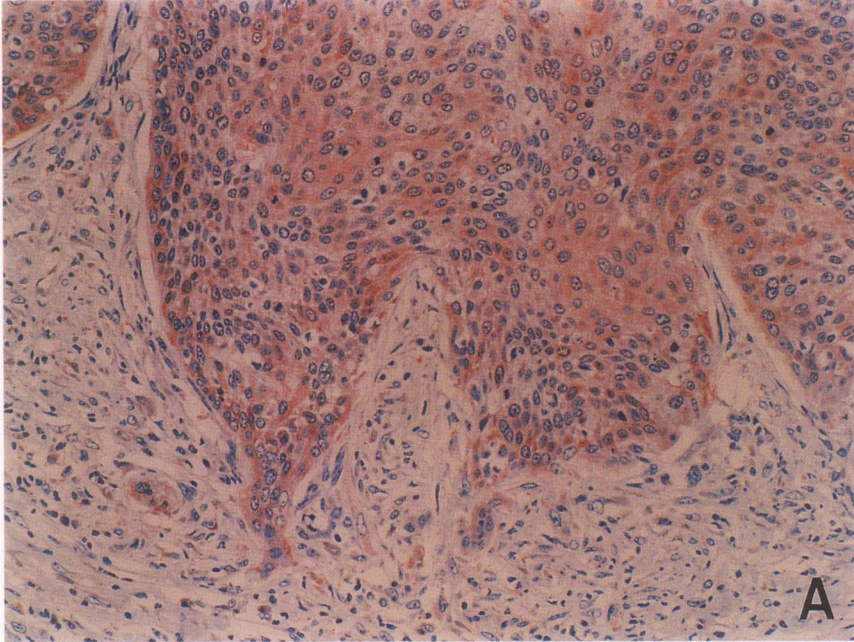


그림 3. VEGF에 대한 면역조직화학염색 소견. 편평상피암종(A)과 선암종(B)에서 종양세포의 세포질에 양성 반응을 보임(H-E 염색, x 200).

표 3. 조직학적 분화도와 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 상관관계

면역 표지자 조직학적 분화도	E-cadherin(%)	MMP-2(%)	VEGF(%)
고-중분화도 (n=64)	45 (70.3)	28 (43.8)	23 (35.9)
저분화도 (n=26)	22 (84.6)	15 (57.7)	11 (42.3)

n: 전체수

다. 종양의 크기와 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 비교

종양의 크기가 3 cm 미만인 29예 중 E-cadherin은 19예(65.5%), MMP-2는 11예(37.9%), VEGF는 12예(41.4%)에서 양성 반응을 보였고, 3 cm 이상인 61예 중 E-cadherin은 48예(78.7%), MMP-2는 32예(52.5%), VEGF는 22예(36.1%)에서 양성 반응을 보여 E-cadherin과 MMP-2에서 종양의 크기가 3 cm 이상인 경우 3 cm 미만인 경우보다 높은 양성율을 보였으나 통계학적 유의성은 없었다($p>0.05$)(표 4).

표 4. 종양의 크기와 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 상관관계

면역 표지자 종양의 크기	E-cadherin(%)	MMP-2(%)	VEGF(%)
3 cm 미만 (n=29)	19 (65.5)	11 (37.9)	12 (41.4)
3 cm 이상 (n=61)	48 (78.7)	32 (52.5)	22 (36.1)

n: 전체수

라. 림프절 전이 유무와 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 비교

림프절 전이가 없는 46예 중 E-cadherin은 34예(73.9%), MMP-2는 19예(41.3%), VEGF는 11예(23.9%)에서 양성 반응을 보였고, 림프절 전이가 있는 44예 중 E-cadherin은 33예(75.0%), MMP-2는 24예(54.5%), VEGF는 23예(52.3%)에서 양성 반응을 보여 림프절 전이가 있는 예에서 E-cadherin, MMP, VEGF 발현율이

더 높았고, VEGF의 발현율은 통계학적으로 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$)(표 5).

표 5. 림프절 전이 유무와 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 상관관계

면역 표지자 림프절 전이	E-cadherin(%)	MMP-2(%)	VEGF(%)
림프절 전이 (-) (n=46)	39 (69.6)	24 (42.9)	21 (37.5)
림프절 전이 (+) (n=44)	28 (82.4)	19 (55.9)	13 (38.2)*

* $p < 0.05$, n: 전체수

마. 임상 병기와 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 비교

병기가 IA, IB인 29예 중 E-cadherin은 24예(82.6%), MMP-2는 12예(41.4%), VEGF는 7예(24.1%)에서 양성 반응을 보였고, 병기가 IIA, IIB인 23예 중 E-cadherin은 16예(69.6%), MMP-2는 8예(34.8%), VEGF는 8예(34.8%)에서 양성 반응을, IIIA인 26예 중 E-cadherin은 19예(73.1%), MMP-2는 17예(65.4%), VEGF는 13예(50.0%)에서 양성 반응을, IIIB인 12예 중 E-cadherin은 8예(66.7%), MMP-2는 6예(50.0%), VEGF는 6예(50.0%)에서 각각 양성 반응을 보였다. VEGF는 병기가 높을수록 발현율이 높은 경향을 보였으나 통계학적 유의성은 없었다 ($p > 0.05$)(표 6).

표 6. 종양의 병기와 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 상관관계

면역 표지자 임상적 병기	E-cadherin(%)	MMP-2(%)	VEGF(%)
IA, IB (n=56)	24 (82.6)	12 (41.4)	7 (24.1)
IIA, IIB (n=34)	16 (69.6)	8 (34.8)	8 (34.8)
IIIA (n=26)	19 (73.1)	17 (65.4)	13 (50.0)
IIIB (n=12)	8 (66.7)	6 (50.0)	6 (50.0)

n: 전체수

바. 생존율과 E-cadherin, MMP-2, VEGF 발현의 비교

추적관찰이 가능한 35명의 환자의 평균 생존율은 54개월이었다. E-cadherin에 양성인 예가 25예, 음성은 10예였고 통계학적으로 생존율과의 유의한 연관성은 없었다($p>0.05$). MMP-2에 양성인 예는 15예, 음성은 20예였고, 평균생존기간이 MMP-2 양성군은 34개월, MMP-2 음성군은 66개월로 통계학적으로 유의한 생존율의 차이가 있었다($p<0.05$)(그림 4). VEGF에 양성인 예가 12예, 음성은 23예였는데 통계학적으로 생존율과의 유의한 연관성은 없었다($p>0.05$).

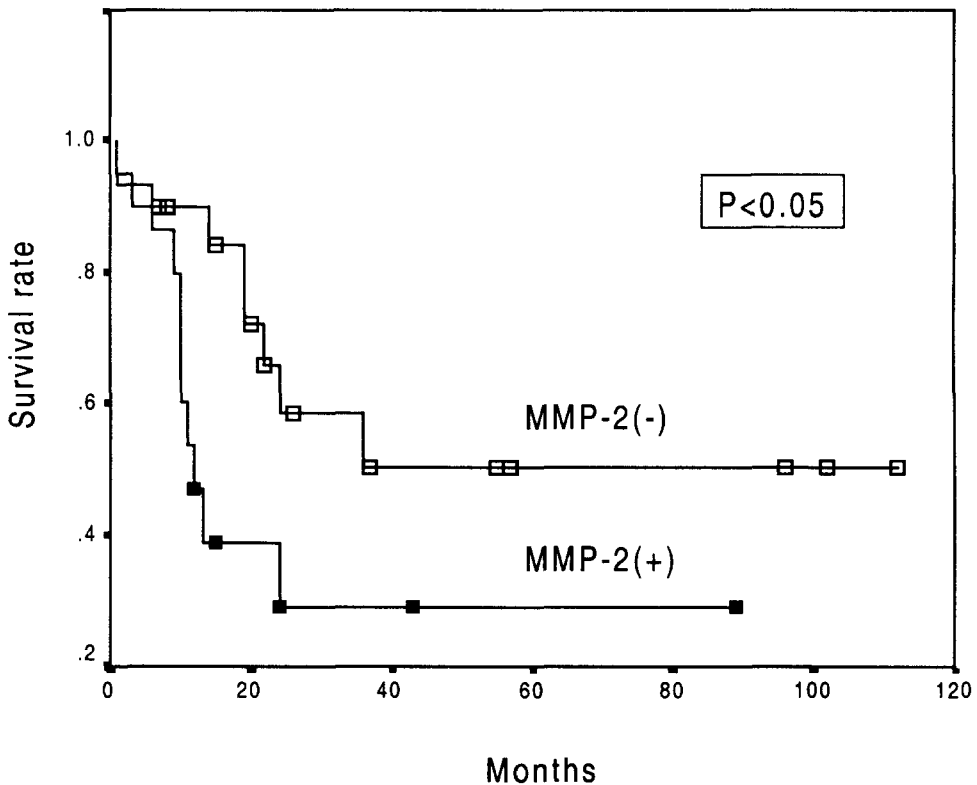


그림 4. 비소세포 폐암종에서 MMP-2의 발현에 따른 생존율 곡선.

사. E-cadherin, MMP-2와 VEGF 상호간 관련성의 통계학적 분석 결과

E-cadherin과 MMP-2, MMP-2와 VEGF, VEGF와 E-cadherin 상호간의 발현율은 통계학적으로 유의한 관련성이 없었다($p>0.05$).

IV. 고찰

상피암세포가 주변조직으로 침습하고 전이하기 위한 여러 과정 중 첫 단계는 종양세포들간의 유착이 상실되어 세포들이 서로 분리되는 것이다. cadherin은 칼슘 의존성 상피세포간 유착 당단백질로서 거의 모든 정상적인 상피세포에 존재하여 세포와 세포간의 상호 유착과 상피 조직의 구조적 유지에 가장 중요한 역할을 한다. 암세포에서 정상 상피세포에 비해 세포간 접착력이 감소된다는 연구 결과가 있고,^{2,3} 이러한 정상적인 세포간 유착의 상실을 반영하는 E-cadherin 발현의 감소가 여러 암종에서 분화도, 침습성, 전이 유무와 연관이 있다는 연구들이 있다.^{4,6-10} Sulzer 등¹¹은 비소세포 폐암종에서 E-cadherin의 면역조직화학적 발현과 종양의 분화도, 림프절 전이 및 생존율이 통계학적으로 유의한 역관계를 보여 E-cadherin이 비소세포 폐암종의 중요한 예후인자임을 제시하였다. 본 연구에서 E-cadherin의 발현은 조직학적 유형 중 선암종에서 편평상피암종보다 발현율이 높았고, 임상 병기 중 수술 절제가 가능한 IA, IB, IIA, IIB, IIIA에서보다 수술 적응증이 안되는 IIIB에서 더 낮은 발현율을 보였으나 통계학적으로 유의한 차이가 없었다. 분화도, 종양의 크기, 림프절 전이, 생존율과도 관련성이 없어 이전의 보고들과는 다른 결과를 보였다. E-cadherin은 구조적으로 catenin이라는 물질과 연결되어 있고, E-cadherin의 발현은 catenin을 생성하는 유전자의 이상에 의해 감소되어 보일 수 있다는 연구¹로 미루어 E-cadherin의 정상적인 기능과 발현은 catenin과의 상호 연관성에 의존한다고 볼 수 있다. 국내에서 김 등⁷은 대장 및 직장암종에서 E-cadherin과 α 및 β -catenin 중 두 가지 이상의 단백질의 발현이 감소된 군과 발현이 보존된 군은 종양의 침윤 깊이, 림프절 전이, 임상 병기 및 조직학적 분화도에 유의한 차이가 있어 상호 복합체를 구성하는 이들 단백질이 서로 기능적인 관련성이 있다는 주장을 제시하였다. 따라서 비소세포 폐암종에서도 이러한 E-cadherin의 발현에 영향을 줄 수 있는 인자들과의 연관성에 대한 연구가 좀더 이루어져야 할 것으로 사료된다.

서로 분리된 종양 세포가 기저막과 세포외 기질로 침습하기 위해서는 이들의

효소적 분해과정이 필요하다. 본 연구에서 MMP-2는 종양세포의 세포질에 염색되었고, 특히 주변 조직으로 침습하고 있는 종양세포에서 더 강한 염색반응을 보였는데 이는 종양세포가 주변 조직으로 침습할 때 MMP-2가 직접적으로 관여한다는 것을 시사하는 소견으로 생각된다. MMP-2는 섬유모세포,³⁶ 혈관내피세포³⁷와 대식세포³⁸ 등에서 분비된다는 보고가 있고, 본 연구에서도 종양세포 뿐 아니라 종양 주변의 간질 내 섬유모세포와 혈관 내피세포에 양성 반응을 보인 예들이 있었다. Liabakk 등¹³은 대직장암에서 MMP-2 mRNA의 발현이 종양세포가 아닌 주변 간질 세포에서만 발현되었다고 보고하였고, 종양세포와 간질 세포를 동시 배양했을 때 MMP가 세포와 세포의 직접적인 접촉과 가용성 인자들에 의해서 유도될 수 있다는 연구들이 있어 종양세포와 간질세포가 MMP의 생성에 서로 협력 관계를 갖는 것으로 생각된다.³⁹⁻⁴¹ 본 연구에서 조직학적 유형별로는 선암종에서 편평상피암종보다 발현율이 높았고, 저분화도, 종양의 크기가 3 cm 이상인 군, 림프절 전이가 있는 군, 그리고 임상 병기가 IIIA, IIIB인 군에서 양성율이 높은 경향을 보였으나 통계학적 유의성은 없었다. 그러나 추적관찰이 가능한 35예의 평균생존 기간은 MMP-2 양성군이 34개월, MMP-2 음성군은 66개월로 통계학적으로 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$). 이와 같은 결과는 MMP-2가 전이 과정의 기저막 분해에 관여하는 효소로 예후 추정인자로서 의미가 있음을 제시하고 있다.

종양의 전이 과정에서 세포간 유착 물질과 단백질 분해 효소의 연관성에 관한 연구는 많지 않은데, Llorens 등⁴³은 마우스의 피부 편평상피암종에서 E-cadherin에 의한 세포-세포간 접촉은 MMP-9의 하향 조절과 연관이 있고, E-cadherin의 소실로 인한 종양의 이동성, 침습성 표현형의 유도에는 적어도 부분적으로 MMP-9의 상향 조절이 관련될 것이라고 주장하였다. 그러나 MMP-2의 활성화나 mRNA는 본 연구에서와 같이 E-cadherin의 발현유무와는 연관이 없었다고 보고하면서, 이는 MMP-2가 주로 간질 세포에서 전구물질의 형태로 분비된 후에 활성화된다는 가설을 뒷받침하는 소견이라 하였다.⁴³ 이러한 결과를 보면 인체의 종양에서도 MMP-2를 비롯한 단백질 분해 작용을 하는 물질들과 E-cadherin 사이의 상호 연관성 및 종양의 침습과 전이에 대한 역할에 대한 연구가 좀더 필요할 것으로 생각된다.

종양이 신생혈관을 생성하는 능력은 원발 종양이 성장할 수 있는 양분과 산소를 공급하고 노폐물을 신속히 제거할 수 있게 할 뿐 아니라 혈행으로 다른 장기로 전이하고 또 전이한 후의 종양이 성장하고 증식하는데 중요한 역할을 한다. 여러 가지 혈관형성인자 중 VEGF는 종양의 신생혈관 형성에 매우 중요한 물질로 알려져 있다. 여러 암종에서 정상 조직보다 종양 조직에서의 VEGF mRNA의 발현이 높고,²¹⁻²³ 폐암종을 비롯한 여러 암종에서 VEGF 발현율은 조직학적 분화도, 높은 미세혈관 밀도와 림프절 전이, 임상 병기, 재발율 및 생존율 등과 상관이 있다는 보고들이 있어서 VEGF 발현의 예후 추정 인자로서의 가능성이 제시되고 있다.²⁴⁻³¹

비소세포 폐암종의 조직학적 유형에 따른 VEGF의 발현율은 연구마다 차이가 있다. Imoto 등⁴⁴은 선암종에서의 VEGF에 대한 면역조직화학적 발현이 편평상피암종보다 유의하게 높았다고 보고하여 선암종이 편평상피암종보다 신생혈관형성 능력이 더 높다는 것을 시사하였는데, 본 연구에서도 통계학적으로 유의한 차이는 없어도 VEGF의 발현이 선암종에서 편평상피암종보다 발현율이 약간 높았다. 편평세포암종에서 선암종보다 VEGF의 발현이 높다고 보고한 연구⁴⁵에서는 이러한 차이를 편평상피세포가 VEGF를 분비하여 진피의 혈관형성을 조절하는 역할을 하기 때문에 발생하는 생리적인 과정의 영향으로 생각하였다. 본 연구에서 종양의 크기에 따른 VEGF 발현율의 유의한 차이는 없었으나, 조직학적으로 분화가 나쁘고, 림프절 전이가 있으며, 종양의 병기가 높을수록 VEGF의 발현율이 증가하는 경향을 보였으며, 특히 림프절 전이가 있는 군은 통계학적으로 유의하게 VEGF의 발현율이 높았다($p < 0.05$). 이는 Ohta 등²⁸이 원발성 폐암종에서의 VEGF 발현이 림프절 전이 유무에 따라 차이가 있으며, 림프절에서의 VEGF 발현도 암종의 전이가 없는 림프절보다 전이가 있는 림프절에서 더 높았다는 보고와 일치하였다. 이러한 결과로 VEGF는 폐암종에서 신생혈관과 림프관 형성을 통해 림프절 전이를 증가시키는 요인이 될 것이라 생각된다. 종양이 림프절로 전이되는 주된 경로는 두 가지인데, 첫 번째는 혈행을 타고 림프절로 들어가는 것이다. 종양세포가 혈액 내에 많이 존재할수록 림프절 침범은 증가될 것이므로 종양의 신생혈관 형성은 간접적으로 림프절 전이에 영향을 주게 된다. 두 번째 경로는 종양이 직접 림

프관으로 침범하는 것이다. 종양 내에 이미 존재하던 림프관이나 새로 형성된 림프관의 수가 많을수록 림프절 전이는 증가할 것이다. 혈관형성인자가 림프관의 형성에도 영향을 주는지 여부는 아직 확실히 밝혀지지 않았지만 VEGF family 중 VEGF-C는 림프관의 증식을 유도한다는 동물 실험 연구가 있고,⁴⁶ VEGF가 내피세포의 강력한 유사분열인자이고 림프관도 내피세포로 구성되어 있는 점을 고려하여, 혈관형성인자가 림프관 형성에도 관여한다는 가설이 성립된다면 VEGF에 의하여 종양의 신생혈관 형성 능력이 증가하여 림프절 전이를 일으킬 것으로 사료된다.²⁸

종양의 신생혈관 형성에 영향을 미칠 수 있는 요인은 여러 가지가 있는데, 그 중 단백 분해 효소는 그 자체의 작용으로 종양의 침습성을 증가시킬 수 있을 뿐 아니라 또한 신생혈관 형성에도 중요한 역할을 담당함으로써 종양의 침습과 전이를 용이하게 할 수 있다. Tolnay 등⁴⁵은 비소세포 폐암종에서 MMP-2와 VEGF의 발현이 서로 연관이 있다고 보고하면서 MMP-2의 신생혈관 형성에 대한 역할을 다음과 같이 설명하였다. 첫째, MMP-2는 기저막의 효소적 분해작용을 통해 VEGF와 같은 혈관형성인자를 쉽게 동원할 수 있는데, VEGF는 세포 표면과 기저막의 heparan sulfate proteoglycan에 의해서 포착될 수 있기 때문에⁴⁷ MMP-2에 의한 기저막의 용해는 종양세포와 내피세포에서 생성된 VEGF가 쉽게 세포외 기질로 분비될 수 있는 환경을 제공한다. 둘째, MMP-2에 의한 세포외 기질의 분해는 새로 형성되는 모세혈관의 발아를 촉진할 수 있다. 세포외 기질이 느슨해짐으로써 신생혈관이 자라나갈 수 있는 공간이 확보되는 것이다. Tolnay 등⁴⁵은 또한 MMP-2와 VEGF mRNA 모두 침습하고 있는 종양세포에서 강한 신호강도를 보였다고 보고하면서, VEGF 또한 MMP-2의 발현에 영향을 줄 수 있다고 주장하였다. 실험적으로 신생모세혈관이 발아하는 부위에서 콜라겐 분해효소치가 증가했다는 보고가 있고,⁴⁸ VEGF가 침습하는 세포 표면에서 MMP-2를 활성화시키는 수용체인 integrin $\alpha_{\mu}\beta_3$ 의 발현을 자극한다는 보고 등⁴⁹이 이러한 주장을 뒷받침하고 있다. VEGF는 또한 혈관투과성 인자(vascular permeability factor)라고도 명명되었던 바 혈관투과성을 증가시켜 세포외 기질에 부종을 야기하고 섬유소를 풍부하게 함으로써 새로 형성된 혈관의 성장과 분지를 지지하며⁵⁰ 혈관 내에서 순환하

고 있던 종양세포가 쉽게 혈관 기저막을 통과할 수 있게 한다. 본 연구에서도 MMP-2의 발현이 주변 조직으로 침습하고 있는 종양세포에서 강하게 나타났고 환자의 생존율과 통계학적으로 유의한 관련성이 있었으며, VEGF는 림프절 전이가 있는 경우 통계학적으로 의미있게 발현율이 높았으므로, MMP-2는 기저막을 분해함으로써 직접적으로 종양세포의 침습성을 증가시키고 또한 신생혈관 형성에 간접적으로 참여함으로써 종양의 성장과 전이에 매우 중요한 역할을 할 것으로 생각되며, VEGF는 신생혈관형성을 촉진하여 암의 림프절 전이에 관여하는 것으로 사료되는 바, MMP-2와 VEGF는 예후인자로서도 의미가 있는 것으로 생각된다.

V. 결론

종양의 전이 과정 중 종양 세포간의 부착에 관여하는 물질인 E-cadherin, 세포 외 기질 및 기저막의 단백 분해 효소인 MMP와 신생혈관 형성에 관여하는 VEGF의 발현과 종양의 조직학적 유형, 분화도, 크기, 림프절 전이의 유무, 임상 병기 등의 병리학적 및 임상적 변수와의 연관성을 조사하여, 종양의 침습과 전이의 각 단계에서 이들 인자의 역할과 상호 관련성 및 예후인자로서의 의미를 알아보고자, 외과적으로 절제한 90예의 비소세포 폐암종을 대상으로 E-cadherin, MMP-2, VEGF에 대한 면역조직화학염색을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 비소세포 폐암종 90예에서 환자의 평균연령은 59.7세이고, 남녀비는 3.1:1이었다. 조직학적 유형은 편평상피암종이 56예, 선암종이 34예였다. 추적관찰이 가능한 35명의 환자의 평균생존율은 54개월이었다.

2. E-cadherin에 대한 면역조직화학염색 결과 90예 중 67예(74.4%)가 양성반응을 보였다. 종양의 유형별로 선암종(82.4%)에서 편평상피암종(69.6%)보다 발현율이 높았으나 통계학적으로 유의한 차이는 없었고($p>0.05$), 분화도, 크기, 림프절 전이 유무, 임상 병기, 생존율과는 관련이 없었다.

3. MMP-2에 대한 면역조직화학염색 결과는 90예 중 43예(47.8%)가 양성반응을 보였고, 특히 주변 조직으로 침습하는 종양세포에서 더 강하게 염색되었다. 또한 추적관찰이 가능한 35예의 생존율은 통계학적으로 유의한 차이를 보였다($p<0.05$). 조직학적 유형별로는 선암종에서 편평상피암종에서보다 양성율이 높았고, 저분화도, 종양의 크기가 3 cm 이상인 군, 림프절 전이가 있는 군과 임상 병기가 IIIA, IIIB인 군에서 양성율이 높은 경향을 보였으나 통계학적 유의성은 없었다($p>0.05$).

4. VEGF에 대한 면역조직화학염색 결과는 90예 중 34예(37.8%)가 양성반응을 보였고, 저분화도, 림프절 전이가 있는 군과 임상 병기가 높을수록 VEGF의 발현율이 증가하는 경향을 보였으며, 특히 림프절 전이가 있는 군은 없는 군에 비해 통계학적으로 유의한 차이를 보였다($p<0.05$). 종양의 크기에 따른 VEGF의 발현율

의 유의한 차이는 없었다.

이상의 결과를 종합하여 보면 비소세포 폐암종에서 MMP-2와 VEGF의 발현은 환자의 예후 추정 인자로 의미가 있다고 사료되며, VEGF는 비소세포 폐암종의 전이에 관여하는 것으로 생각된다.

참고 문헌

1. Price JT, Bonovich, MT, Kohn EC. Biochemistry of cancer dissemination. Crit Rev Biochem Mol Biol 1997;32:175-253.
2. Coman CR. Adhesiveness and stickiness; two independent properties of the cell surface. Cancer Res 1961;21:1436-8.
3. Shiozaki H, Tahara H, Oka H, Miyata M, Kobayashi K, Tamura S. Expression of immunoreactive E-cadherin adhesion molecules in human cancers. Am J Pathol 1991;139:17-23.
4. Oka H, Shiozaki H, Kobayashi K, Inoue M, Tahara H, Kobayashi T. Expression of E-cadherin cell adhesion molecules in human breast cancer tissues and its relationship to metastasis. Cancer Res 1993;53:1696-701.
5. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins pathologic basis of disease. 6th ed. Philadelphia(Pennsylvania): W.B. Saunders company; 1999.
6. 팽성숙, 장희진, 서정일. 결직장선암종에서의 p53, E-cadherin, nm23, CD44의 발현양상과 종양의 맥관형성의 의의. 대한병리학회지 1997;31:314-25.
7. 김형중, 이태진, 박언섭, 유재형. 대장직장암종에서 E-cadherin, α -catenin 및 β -catenin의 발현과 임상병리학적 인자와의 상관관계. 대한병리학회지 2000;34:264-72.
8. Binguier PP, Umbas R, Schaafsma HE, Karthaus HFM, Debruyne FMJ, Schalken JA. Decreased E-cadherin immunoreactivity correlates with poor survival in patients with bladder tumors. Cancer Res 1993;53:3241-5.
9. Kadowaki T, Shiozaki H, Inoue M, Tamura S, Oka H, Doki Y, et al. E-cadherin and α -catenin expression in human esophageal cancer. Cancer Res 1994;54:291-6.
10. Umbas R, Schalken JAS, Aalders TW, Carter BS, Karthaus HFM, Schaafsma HE, et al. Expression of the cellular adhesion molecule

- E-cadherin is reduced or absent in high-grade prostate cancer. *Cancer Res* 1992;52:5104-9.
11. Sulzer MA, Leers MPG, van Noord JA, Bollen ECM, Theunissen PHMH. Reduced E-cadherin expression is associated with increased lymph node metastasis and unfavorable prognosis in non-small cell lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:1319-23.
 12. Chambers AF, Matrisian LM. Changing view of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:1260-70.
 13. Liabakk NB, Talbot I, Smith RA, Wilkinson K, Balkwill F. Matrix metalloprotease 2(MMP-2) and matrix metalloprotease 9(MMP-9) type IV collagenases in colorectal cancer. *Cancer Res* 1996;56:190-6.
 14. Pyke C, Ralfkiar E, Huhtala P, Hurskainen T, Dano K, Tryggvason K. Localization of messenger RNA for M_r 72,000 and 92,000 type IV collagenases in human skin cancers by in situ hybridization. *Cancer Res* 1992;52:1336-41.
 15. Urbansky SJ, Edwards DR, Maitland A, Leco KJ, Watson A, Kossakowska AE. Expression of metalloproteinases and their inhibitors in primary pulmonary carcinomas. *Br J Cancer* 1992;66:1188-94.
 16. Kodate M, Kasai T, Hashimoto H, Yasumoto K, Iwata Y, Manabe H. Expression of matrix metalloproteinase (gelatinase) in T1 adenocarcinoma of the lung. *Pathol Int* 1997;47:461-9.
 17. Alonso DF, Skilton G, De Lorenzo MS, Scursoni AM, Yoshiji H, Gomez DE. Histopathological findings in a highly invasive mouse mammary carcinoma transfected with human tissue inhibitor of metalloproteinases-1. *Oncol Rep* 1998;5:1083-7.
 18. Tischer E, Mitchell R, Hartman T, Silva M, Gospodarowicz D, Fidders JC, et al. The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple protein forms are encoded through alternative exon splicing. *J Biol Chem*

1991;266:11947-54.

19. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997;18:4-25.
20. Vermeulen PB, Gasparini G, Fox SB, Toi M, Martin L, McCulloch P, et al. Quantification of angiogenesis in solid tumors: an international consensus on the methodology and criteria of evaluation. *Eur J Cancer* 1996;14:2474-84.
21. Brown LF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Manseau EJ, Dvorak HF, et al. Increased expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in kidney and bladder carcinomas. *Am J Pathol* 1993;143:1255-62.
22. Abu-Jawdeh GM, Faix JD, Niloff J, Tognazzi K, Manseau E, Dvorak HF, et al. Strong expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in ovarian borderline and malignant neoplasms. *Lab Invest* 1996;6:1105-15.
23. Yoshiji H, Gomez DE, Shibuya M, Thorgeirsson UP: Expression of vascular endothelial growth factor, its receptor, and other angiogenic factors in human breast cancer. *Cancer Res* 1996;56:2013-6.
24. Giatromanolaki A, Koukourakis MI, Kakolyris S, Turley H, O'Byrne K, Scott PA, et al. Vascular endothelial growth factor, wild-type p53, and angiogenesis in early operable non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 1998;4:3017-24.
25. 장태정, 김정란. 위암종에서 vascular endothelial growth factor에 관한 면역조직화학적 연구. *대한병리학회지* 1997;31:401-9.
26. Shibusu T, Shijubo N, Abe S. Tumor angiogenesis and vascular endothelial growth factor expression in stage I lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 1998;4:1483-7.
27. 임지준, 홍삼표, 이재일, 홍성두, 임창윤. 구강 편평세포암종에서 vascular

- endothelial growth factor 발현과 미세혈관 밀도. 대한병리학회지 2000;34:190-8.
28. Ohta Y, Watanabe Y, Murakami S, Oda M, Hayashi Y, Nonomura A, et al. Vascular endothelial growth factor and lymph node metastasis in primary lung cancer. *Br J Cancer* 1997;75:1041-5.
 29. Aikawa H, Takahashi H, Fujimura S, Sato M, Endo C, Sakurada A, et al. Immunohistochemical study on tumor angiogenic factors in non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 1999;19:4305-9.
 30. Ohta Y, Tomita Y, Oda M, Watanabe S, Murakami S, Watanabe Y. Tumor angiogenesis and recurrence in stage I non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 1999;68:1034-8.
 31. Fontanini G, Vignati S, Boldrini L, Chine S, Silvestri V, Lucchi M, et al. Vascular endothelial growth factor is associated with neovascularization and influences progression of non-small cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res* 1997;3:861-5.
 32. Smit ER, Groen HJM, Splinter TAW, Ebels T, Postmus PE. New prognostic factors in resectable non-small cell lung cancer. *Thorax* 1996;51:638-46.
 33. Sozzi G, Veronese ML, Negrini M, Baffa R, Coticelli MG, Inoue H, et al. The FHIT gene at 3p14.2 is abnormal in lung cancer. *Cell* 1996;85:17-26.
 34. Sherr CJ. Cancer cell cycles. *Science* 1996;274:1672-7.
 35. Mattern J, Koomagi R, Volm M. Association of vascular endothelial growth factor expression with intratumoral microvessel density and tumour cell proliferation in human epidermoid lung carcinoma. *Br J Cancer* 1996;73:931-4.
 36. Overall CM, Wrana JL, Sodec J. Independent Regulation of collagenase, 72-kDa progelatinase, and metalloendoproteinase inhibitor expression on human fibroblasts by transforming growth factor- β . *J Biol Chem*

1989;264:1860-9.

37. Pyke C, Ralfkiar E, Tryggvason K, Dan K. Messenger RNA for two ype IV collagenases is located in stromal cells in human colon cancer. *Am J Pathol* 1993;142:359-65.
38. Liotta LA, Tryggvason K, Garbisa S, Hart IR, Foltz CM, Shafie S. Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. *Nature (Lond.)* 1980;284:67-8.
39. Himmelstein BP, Canete-Soler R, Bernhard EJ, Muschei RJ. Induction of fibroblast 92 kDa gelatinase/type IV collagenase expression by direct contact with metastatic tumor cells. *J Cell Sci* 1994;107:477-86.
40. Noel AC, Polette M, Lewalle JM, Munaut C, Emonard HP, Birembaut P, et al. Coordinate enhancement of gelatinase A mRNA and activity levels in human fibroblasts in response to breast-adenocarcinoma cells. *Int J Cancer* 1994;56:331-6.
41. Ito A, Nkajima S, Sasaguri Y, Nagase H, Mori Y. Co-culture of human breast carcinoma MCF-7 cells and human dermal fibroblasts enhances the production of matrix metalloproteinases 1, 2 and 3 in fibroblasts. *Br J Cancer* 1995;71:1039-45.
42. Llorens A, Rodrigo I, Lopez-Barcons L, Gonzalez-Garrigues M, Lozano E, Vinyals A, et al. Down-regulation of E-cadherin in mouse skin carcinoma cells enhances a migratory and invasive phenotype linked to matrix metalloproteinase-9 gelatinase expression. *Lab Invest* 1998;78:1131-42.
43. Okada A, Tomasetto C, Lutz Y, Bellocq JP, Rio MC, Basset P. Expression of matrix metalloproteinases during rat skin wound healing: Evidence that membrane-type 1 matrix metalloproteinase is a stromal activator of progelatinase A. *J Cell Biol* 1997;137:67-77.
44. Imoto H, Osaki T, Taga S, Ohgami A, Ichiyoshi Y, Yasumoto K. Vascular endothelial growth factor expression on non-small cell lung cancer:

- prognostic significance in squamous cell carcinoma. 1998;115:1007-14.
45. Tolnay E, Wiethage T, Kuhnen C, Wulf M, Voss B, Muller KM. Expression of type IV collagenase correlates with the expression of vascular endothelial growth factor in primary non-small cell lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 1997;123:652-8.
 46. Jeltsch M, Kaipainen A, Joukov V, Meng X, Lakso M, Rauvala H, et al. Hyperplasia of lymphatic vessels in VEGF-C transgenic mice. *Science* 1997;276:1423-5.
 47. Breier G, Abrecht U, Sterrer S, Risau W. Expression of vascular endothelial growth factor during embryonic angiogenesis and endothelial cell differentiation. *Development* 1992;114:521-32.
 48. Moscatelli D, Gross JL, Rifkin DB. Angiogenic factors stimulates plasminogen activator and collagenases production by capillary endothelial cells. *J Cell Biol* 1981;91:201a.
 49. Brooks PC, Stromblad S, Sanders LC, von Schalscha TL, Aimes RT, Stetler-Stevenson WG, et al. Localization of matrix metalloproteinase MMP-2 to the surface of invasive cells by interaction with integrin $\alpha_{\mu}\beta_3$. *Cell* 1996;85:683-93.
 50. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995;146:1029-39.

ABSTRACT

The expression of E-cadherin, matrix metalloproteinase, and vascular endothelial growth factor in non-small cell lung carcinoma

Song, Ji Sun
Dept. of Medicine
The Graduate School
Yonsei University

(Directed by Associate Professor Soon-Hee Jung)

E-cadherin is a calcium-dependent epithelial adhesion molecule which plays a role in the initial step of invasion of cancer cells. The step that follows the migration of separated tumor cells is a proteolytic lysis of basement membrane and extracellular matrix by enzymatic protease of basement membrane of epithelial and endothelial cells such as matrix metalloproteinase(MMP). Vascular endothelial growth factor(VEGF) is known to be an endothelial cell-specific powerful mitogen as well as a vascular permeability factor. This study is to examine the correlation between expression of these factors and pathologic or clinical variables and to evaluate the roles and prognostic significance of those factors and relationship among these factors. Immunohistochemical stains were performed for E-cadherin, MMP-2, and VEGF in surgically resected specimens from 90 patients with non-small cell lung carcinoma. Mean age of the patients was 59.7 years. Histologic type was

categorized into 56 cases of squamous cell carcinoma and 34 cases of adenocarcinoma. Mean survival period of the 35 patients was 54 months. The immunohistochemical stains for E-cadherin, MMP-2, and VEGF revealed positive reaction in 67 cases(74.4%), 43 cases(47.8%), and 34 cases(37.8%), respectively. The expression of E-cadherin was higher in adenocarcinoma(82.4%) than in squamous cell carcinoma(69.6%). MMP-2 was expressed in the tumor cells, especially those invading into the surrounding stroma. The expression of MMP-2 was significantly correlated with the survival rate($p<0.05$). The expression of VEGF in the tumor cells was significantly higher in cases with lymph node metastasis($p<0.05$).

In conclusion, these findings suggest that the expression of MMP-2 and VEGF predict poor prognosis of patients with non-small cell lung carcinoma and that VEGF may play a role in tumor metastasis.

Key words : non-small cell lung carcinoma, E-cadherin, matrix metalloproteinase, vascular endothelial growth factor, metastasis step, prognostic factor