

위암 환자의 암조직과 혈청 내 혈관내피 성장인자의 발현과 임상병리학적 소견 및 예후와의 상관관계

성균관대학교 의과대학 강북삼성병원 ¹외과학교실, ²병리학교실, 연세대학교 의과대학 ³외과학교실, ⁴병리학교실
류창학¹ · 금주섭² · 노성훈³ · 김충배³ · 이광형³ · 양우익⁴

Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Cancer Tissues and Serum of Gastric Cancer Patients: Correlation with Clinicopathologic Findings and Prognosis

Chang Hak Yoo, M.D.¹, Joo Sub Keum, M.D.², Sung Hoo Noh, M.D.³, Choong Bai Kim, M.D.³, Kwang Hyung Lee and Woo Ik Yang, M.D.⁴

Purpose: Vascular endothelial growth factor (VEGF) is known to be produced by various malignant tumors and thought to be involved in microvascular permeability and angiogenesis. However, the clinicopathologic significance of the expression of VEGF in gastric cancer remains unclear.

Methods: To examine the relationship between VEGF expression in gastric cancer and clinicopathologic factors or patient survival, tumor VEGF expression was assessed by immunohistochemical study in 144 gastric cancer patients. In addition, serum VEGF (S-VEGF) level was measured by enzyme-linked immunosorbent assay in 116 patients and in 32 healthy controls.

Results: Positive staining for VEGF was observed in 68.8% (99 out of 144) of gastric cancers, and its expression was observed more frequently in patients with intestinal type and serosal invasion tumors. However, there was no significant correlation between the patients' survival and VEGF positivity. Significant differences in preoperative S-VEGF level were found between healthy controls and patients with gastric cancer (P=0.014), whereas there was no significant difference in the S-VEGF level between control and curative resection group. When S-VEGF levels were compared between groups categorized by different clinicopathologic vari-

ables, a significant correlation was found between a high S-VEGF level and a tumor size greater than 5 cm, serosal invasion, lymph node and distant metastasis. Moreover, postoperative S-VEGF levels were significantly elevated as compared to preoperative levels (P=0.000). When the median S-VEGF level was used as a cutoff level, the survival rate of patients with elevated S-VEGF levels was significantly lower than that of patients with low levels (P=0.001).

Conclusion: These results demonstrate that a high preoperative S-VEGF level is associated with tumor progression, metastasis and a poor outcome in patients with gastric cancer. Further studies are warranted to determine the clinical value of S-VEGF as an tumor marker and an indicator of tumor angiogenesis in gastric cancer. (*J Korean Surg Soc* 2002;62:43-51)

Key Words: Gastric cancer, Vascular endothelial growth factor, Prognostic factor

중심 단어: 위암, 혈관내피성장인자, 예후인자

Departments of ¹Surgery and ²Pathology, Sungkyunkwan University School of Medicine, Kangbuk Samsung Hospital, Departments of ³Surgery and ⁴Pathology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

서 론

악성종양이 일정한 크기 이상 성장하기 위해서는 주위 조직으로부터 혈관신생(angiogenesis)이 이루어져야 가능하므로 종양세포는 스스로 종양 주위의 혈관을 자극하여 혈관신생을 촉진시킨다. 혈관신생은 기존 혈관으로부터 새로운 혈관이 생성되는 복잡한 일련의 과정을 말하며 이는 개체의 발생, 배란, 염증 및 수복을 제외한 보통의 경우 증식이 엄격히 조절되므로 관찰하기가 힘들다. 그러나 혈관신생은 건선, 당뇨병성 망막증이나 류마치스 관절염 등 비종양성 병변에서 병의 유발에 중요한 역할을 하며, 특히 악성종양의 성장과 전이는 혈관신생에 의해 좌우된다고 알려져 있다.(1) 이러한 혈관신생에 관여하는 물질로

책임저자 : 류창학, 서울시 종로구 평동 108번지
☎ 110-102, 성균관대학교 의과대학 강북 삼성병원
외과학교실

Tel: 02-2001-2460, Fax: 02-2001-2131

E-mail: chyoo63@netsgo.com

접수일 : 2001년 10월 10일, 게재승인일 : 2001년 12월 8일

는 cytokine 등을 포함하여 여러 가지가 있으며 이들은 종양세포나 자극받은 혈관내피세포, 염증세포 등에서 분비되며 여기에는 transforming growth factor β (TGF- β), tumor necrosis factor α (TNF- α), basic-fibroblast growth factor (bFGF), platelet derived endothelial cell growth factor (PD-ECGF), hepatocyte growth factor (HGF), vascular endothelial growth factor (VEGF) 등이 있다. 이 중 VEGF는 vascular permeability factor (VPF)로도 알려져 있는 분자량 34~42 kd의 헤파린 결합 당단백질로 혈관내피세포 표면에 있는 VEGF 수용체인 flt-1이나 KDR과 결합하여 혈관내피세포의 증식과 이동을 유도하고 혈장단백의 투과를 증가시켜 혈관신생에 필요한 기질을 만들어 혈관신생을 촉진하는 것으로 보고되어 있다.(2) VEGF 유전자는 8개의 exon들로 구성되어 mRNA의 교대분할에 의해 4개의 VEGF 아형(VEGF-121, 165, 189, 206)을 만드는데 165가 가장 풍부한 아형으로 알려져 있다. 분자량이 작은 VEGF-121과 165는 soluble form으로 세포에서 분비가 되지만 분자량이 큰 VEGF-189와 206은 insoluble form으로 세포 내에서만 존재하게 된다. 이러한 각 아형의 기능에 대해서는 아직까지 확실히 알려져 있지 않으며 모든 아형의 VEGF가 각 세포에서 모두 발현이 되는지 혹은 조직에 따라 특이한 아형만 발현이 되는지 확실하지 않다. 그러나 여러 연구결과 저산소 상태의 비악성세포나 악성세포에서는 주로 VEGF-165와 121이 발현된다고 알려져 있다.(3)

VEGF의 발현은 종양조직 내에서 면역조직화학염색으로 확인할 수 있으며, Western blotting이나 RT-PCR 등을 이용하여 VEGF mRNA를 정량적으로 분석할 수 있다. 또한 종양조직이나 혈청 내의 VEGF 농도를 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)로 정량적으로 분석할 수도 있다. 최근 연구 결과들(4-9)은 VEGF가 배양된 종양세포, 인체의 여러 고형암에서 분비되는 것으로 보고하고 있으며, 악성종양에 의한 복강 및 늑막 내 삼출액에도 존재하는 것으로 알려져 있다.(10) 따라서 혈관신생이 종양의 증식 및 전이 등의 악성도와 밀접한 관련이 있다는 점을 고려하면 VEGF의 조직 내 발현이나 혈청 내 농도가 종양의 악성도와 밀접한 관계가 있을 것으로 예측할 수 있다. 이는 인체 내 발생한 위암을 포함하여 여러 종류의 암에서 확인되고 있으며 예후인자로서의 가치뿐 아니라 더 나아가 VEGF의 억제로 종양의 성장 억제를 시도하고 있다.(11)

위암은 우리 나라에서 발생률 및 사망률이 가장 높은 악성종양으로 수술로 완전한 절제가 되더라도 40% 이상의 환자에서 수술 후 수년 이내에 재발이 되는 악성도가 높은 종양이다.(12) 위암의 재발은 이미 수술 당시에 존재한 미세 전이암의 성장으로 인한 것으로 원발암의 전이 능력을 미리 알 수 있는 종양표지자(tumor marker)가 있으면 암환자의 진단, 예후 판정, 치료에 대한 효과 판정과 치료 후 환자의 경과 관찰 등이 용이하게 이루어질 수 있

으나 현재까지 위암에서 임상적으로 사용하고 있는 α -fetoprotein, CEA, CA 19-9, CA 125, CA 72-4 등은 암을 조기에 진단하거나 암의 재발을 진단함에 있어 특이성이나 감응성이 떨어지는 것으로 알려져 있다. 따라서 위암에서도 기존의 예후인자 이외에 분자생물학적 방법을 이용한 예후인자를 찾기 위한 노력이 이루어지고 있으며 VEGF도 그중의 하나라고 할 수 있다. 그러나 현재까지 위암에서 VEGF에 대한 보고는 많지 않으며 그 역할에 대한 상반된 견해(13,14)가 있으므로, 본 연구에서는 위선암 환자의 위암 조직에 대한 면역조직화학염색을 시행하여 VEGF의 발현여부를 알아보고, 동시에 위암 환자의 혈청 VEGF의 농도를 측정함으로써 임상병리학적 소견과의 상관관계 및 예후인자로서의 가능성을 알아보고자 하였다.

방 법

1) 연구대상

1997년 8월부터 1997년 11월까지 연세대학교 의과대학 외과학교실에서 위선암으로 진단받고 수술을 시행한 169명의 환자를 대상으로 하였다. 대상환자들의 평균연령은 54.8세(범위; 26~79세)로 남자가 113명, 여자는 56명이었으며 수술은 근치적 위절제가 134예, 고식적 위절제가 15예, 원격전이 혹은 절제 불가능으로 개복술만 시행한 예가 20예였으며, UICC TNM 분류법에 따른 병기는 I기 37예, II기 20예, III기 56예, IV기는 56예였다.

VEGF에 대한 면역조직화학염색은 전체 대상환자 중 파파린 포매조직의 상태가 양호하고 수술 후 추적조사가 이루어진 144명의 환자를 대상으로 하였다. 이들은 수술 전에 수혈이나 항암화학요법 혹은 방사선 치료 등을 전혀 받지 않았으며 모두 D2 이상의 림프절 절제술을 포함한 근치적 위절제술이 시행되었다.

혈청 VEGF 농도(Serum VEGF concentration; 이하 S-VEGF)의 측정은 전체 대상환자 중 수술 전과 수술 후 7일째 채혈이 가능하였던 116명의 환자를 대상으로 하였고, 근치적 혹은 고식적 위절제가 96예, 개복술만 시행한 경우가 20예였다. 또한 정상 대조군으로 당뇨, 간질환 등의 만성질환이 없는 건강한 32명의 혈액을 채취하여 S-VEGF 농도를 측정하였다. VEGF에 대한 면역조직화학염색과 혈청농도 측정이 동시에 이루어진 예는 모두 91예였다.

환자의 나이, 성별, 병기 이외에 위암의 크기, 위치, 종양의 육안적 소견, 조직 병리학적 소견 등을 기록하였고, 추적조사의 종료시점은 2000년 12월 31일로 하여 추적 평균값은 36개월(3~42개월)이었으며, 대상환자 중 수술 후 합병증으로 1개월 이내에 사망한 예는 없었다.

2) 연구방법

(1) **면역조직화학적 염색**: 대상환자의 Hematoxylin & Eosin 염색 슬라이드를 병리의사가 재검하여 최초 진단 및 병기가 정확한지 확인한 후 파라핀 포매조직을 4 μ m 두께의 연속 절편으로 만들어 슬라이드에 부착하였다. 면역조직화학염색을 위해 파라핀 포매조직을 xylene으로 탈 파라핀시킨 후 점차적으로 낮은 농도의 알코올로 함수시켰으며 microwave oven을 이용하여 5분간 고온 처리하였다. 내인성 과산화 효소(peroxidase) 활성을 제거하기 위해 20분간 메탄올에서 3% 과산화수소로 처리한 후 phosphate buffered saline (PBS) 완충액으로 5분간 세척하였다. 비특이 항체 반응을 제거하기 위해 정상 토끼 혈청을 포함한 PBS에 20분간 처리하였다. 일차 항체는 polyclonal anti-VEGF (Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA)를 1:100으로 희석하여 조직 슬라이드에 반응시킨 후 4°C에서 하룻밤 동안 반응시켰다. 항체와 반응시킨 조직을 Tris buffered saline (TBS)으로 20분간 세척한 후 이차 항체로 biotinylated anti-rabbit serum에 30분간 반응시키고 Streptavidin peroxidase (DAKO LSAB kit, Carpinteria, CA, USA)에 20분간 반응시켰다. TBS에 10분간 세척 후 AEC (3% 3-amino-9-ethylcarbazole chromogen)을 이용하여 2회 반복 염색하였다. 증류수로 세척한 후 hematoxylin으로 실온에서 1분간 대조염색을 실시한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

(2) **면역조직화학적 염색의 판독**: 대상환자의 임상병리학적 소견에 대한 사전 지식이 없는 병리의사가 각 조직 절편 중 원발병소의 종양조직 및 인접 정상조직에서 저배율의 현미경 시야로 염색여부를 확인한 후 고배율 시야에서 염색된 종양세포 수 및 염색 강도를 표시하였다. 즉 종양세포의 세포질에 연갈색의 색소 침착이 안 되면 0점, 염색 강도에 따라 약함(1점), 중등도(2점), 강함(3점)으로 구분하였고, 염색 범위에 따라 10% 미만 (1점), 10~50% (2점), 50% 이상 (3점)으로 구분하여 각각 수치화하였다. 최종적으로 염색 강도와 염색 범위의 수치를 합하여 3점 이상인 경우를 양성군, 3점 미만은 음성군으로 분류하여 분석하였다. 음성 대조를 위해 일차 항체를 반응시키지 않고 다른 과정은 동일하게 시행한 후 관찰하였다.

(3) **S-VEGF 측정**: 정상 대조군(n=32)과 위암 환자(n=116)의 말초혈관에서 정맥혈을 얻는 즉시 3.8% 0.3 ml buffered citrate가 포함된 vacutainer tube (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA)에 넣어 4°C 2,000 rpm에서 20분간 원심 후 혈청을 분리하여 사용 전까지 -70°C에 저장하였다. 수술을 시행한 환자에서는 수술 후 7일째 같은 방법으로 혈청을 얻어 -70°C에 저장하였다. S-VEGF 농도 측정은 상용 kits (R&D systems, Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 quantitative sandwich enzyme immunoassay 방법

으로 하였다. 이 방법은 solid-phase의 단클론항체와 recombinant human VEGF₁₆₅에 대한 효소중합 다클론항체를 이용하는 것으로 구체적인 실험방법은 제조회사의 실험지침서에 따랐다. 냉동혈청은 실온에서 녹인 후 분석 희석액으로 동량 희석하여 100 μ l의 검체를 각 분석에 이용하였고, 파장 450 nm에서 각 well의 흡광도를 Behring ELISA Processor II plus[®]를 이용하여 측정하였다. 각 표준시료의 평균 흡광도를 계산하여 표준곡선을 구한 후 각 시료의 S-VEGF 농도를 pg/ml로 산출하였다.

3) 통계처리

통계처리는 Windows용 SPSS version 8.0 Program을 사용하였다. VEGF 면역조직화학염색 결과와 임상병리학적 소견과의 상관관계는 Chi-square test 혹은 Fisher's exact test (two-tailed)를 이용하였다. S-VEGF 농도의 분석은 paired t-test 및 ANOVA를 이용하였으며, 두 독립적 군간의 비교는 nonparametric test인 Mann-Whitney U test로 검정하였다. 생존율 분석은 Kaplan-Meier법에 따른 누적생존율을 구하여 log-rank test로 검정하였다. 통계적 유의성은 P 값이 0.05 이하인 경우로 하였다.

결 과

1) VEGF 면역조직화학염색 결과

VEGF에 대한 항체로 면역조직화학염색을 시행한 결과 정상 위점막세포는 VEGF에 대한 발현이 전혀 없었고 암세포의 경우 주로 세포질에서 고르게 발현이 되었다(Fig. 1). 판독기준에 따라 발현 양성으로 판정한 경우가 전체 144예 중 99예(68.8%)였다. VEGF 발현여부와 임상병리학적 소견과의 상관관계는 Table 1에 나타내었다. VEGF의 발현은 장형(intestinal type) 및 장막침윤이 있는 종양에서 유의하게 많았으나 기타 임상병리학적 소견들과는 상관관계가 없었다. VEGF 음성군의 경우 평균 생존기간이 32.1개월이었고 양성군은 30.9개월로 log-rank test로 비교한 결과 두 군간에 유의한 차이가 없었다(Fig. 2).

2) S-VEGF 농도 측정 결과

(1) **수술 전 S-VEGF 농도와 임상병리학적 소견과의 상관관계**: 위암 환자의 수술 전 S-VEGF는 평균 203.9 \pm 36.7 pg/mL (중앙값; 195, 범위; 151~473)로 정상 대조군의 191.0 \pm 16.0 pg/mL (중앙값; 185, 범위; 174~236)에 비해 유의하게 높았다(P=0.014). 그러나 정상 대조군과 근치적 절제군간의 S-VEGF는 유의한 차이가 없었고, 이들 두 군과 고식적 절제 혹은 비절제군간에는 유의한 차이가 있었다(Fig. 3). S-VEGF와 임상병리학적 소견과의 상관관계에서 환자의 성별, 연령, 종양의 육안적 소견, 조직학적 소견 등에 따른 차이는 없었으나 종양의 크기가 5 cm 이상, 장

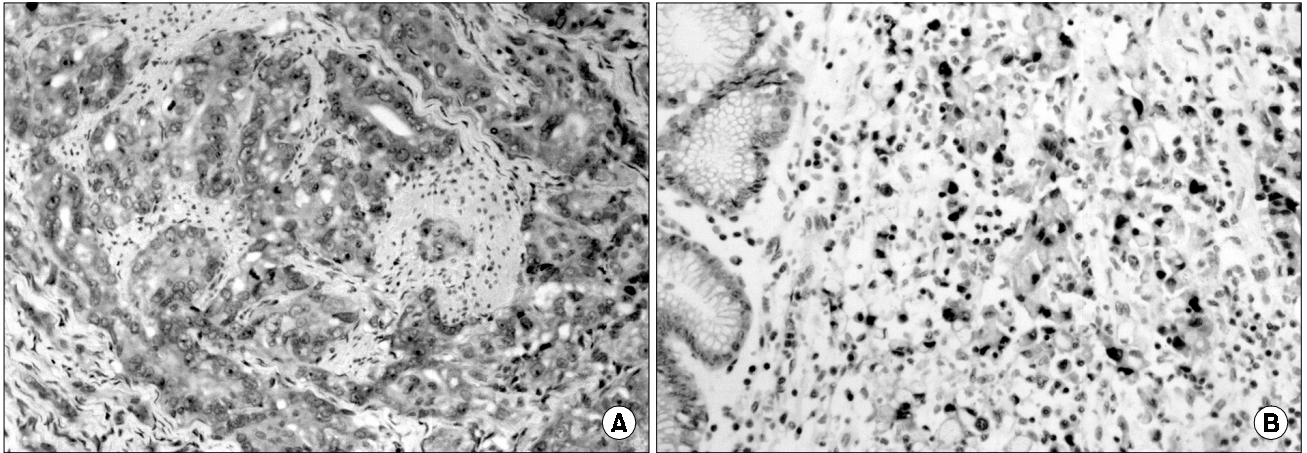


Fig. 1. Immunohistochemical staining for VEGF in gastric cancer tissues. There are strong cytoplasmic staining of tumor cells in (A) intestinal type, and (B) diffuse type of gastric cancer, $\times 200$.

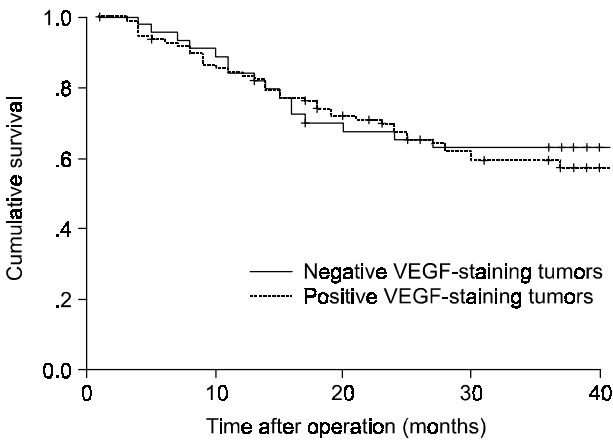


Fig. 2. Survival curves for 45 patients with negative VEGF-staining tumors and 99 with positive VEGF-staining tumors. There was no difference between these two groups ($P=0.7258$).

막침윤 및 림프절전이, 원격전이가 있는 군의 S-VEGF가 5 cm 이하, 장막침윤 및 림프절전이, 원격전이가 없는 군에 비해 유의하게 높았다(Table 2). 병기의 경우 I기, II기, III기간에는 유의한 차이가 없었으나 이들과 IV기간에는 유의한 차이가 있었다(Fig. 4).

(2) **수술 전과 수술 후 S-VEGF 측정 결과:** 수술 후 7일째 측정된 S-VEGF는 평균 238.4 ± 36.7 pg/mL (중앙값: 221, 범위: 181~704)로 수술 전 S-VEGF에 비해 유의하게 높았다(Fig. 5).

(3) **S-VEGF와 면역조직화학염색 결과와의 상관관계:** 종양에서 VEGF에 대한 면역조직화학 염색과 S-VEGF 농도의 측정이 모두 시행된 91예에서 염색발현 양성군과 음성군간의 S-VEGF 농도는 유의한 차이가 없었다(Fig. 6).

(4) **S-VEGF와 생존율과의 상관관계:** 위암 환자의 S-VE

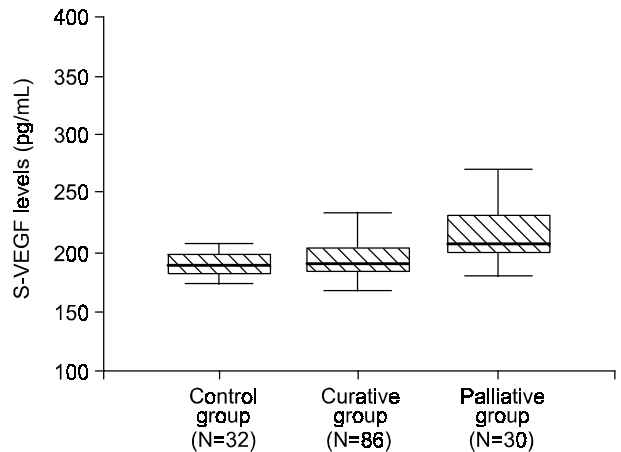


Fig. 3. Preoperative S-VEGF levels according to the curability. Values in the palliative treatment group were significantly greater than values in the control or curative group ($P=0.000$ by Mann-Whitney U test), but there were no significant differences between the controls and curative group.

GF 중앙값인 195 pg/mL를 기준으로 두 군으로 나누어 생존율을 분석한 결과 195 pg/mL 이상인 군의 생존율이 195 pg/mL 미만인 군에 비해 유의하게 불량하였다(Fig. 7). 근치적 절제군만 대상으로 하였을 경우에도 195 pg/mL 이상인 군의 예후가 유의하게 불량하였다(Fig. 8).

고 찰

인체에 발생하는 악성종양이 성장과 전이를 하기 위해서는 혈관생성이 필요하므로 대표적인 혈관생성인자의 하나인 VEGF에 대한 많은 연구가 최근까지 이루어지고

Table 1. Correlation between the expression of VEGF and clinicopathologic variables

Variable	Results of immunostaining [No. of patients (%)]		p value
	VEGF-negative	VEGF-positive	
Sex			0.133
Male	26 (27.1)	70 (72.9)	
Female	19 (39.6)	29 (60.4)	
Age (years)			0.592
< 55	19 (28.8)	47 (71.2)	
≥ 55	26 (33.3)	52 (66.7)	
Tumor size (cm)			0.722
< 5	22 (29.7)	52 (70.3)	
≥ 5	23 (32.9)	47 (67.1)	
Tumor location			0.197
Upper third	4 (23.5)	13 (76.5)	
Middle third	13 (28.2)	33 (71.8)	
Lower third	25 (33.3)	50 (66.7)	
Whole	3 (50.0)	3 (50.0)	
Gross type			0.453
Superficial or localized	18 (35.3)	33 (64.7)	
Infiltrative or diffuse	27 (29.0)	66 (71.0)	
Histologic type			0.079
Differentiated	9 (20.5)	35 (79.5)	
Undifferentiated	36 (36.0)	64 (64.0)	
Lauren type			0.009
Intestinal	21 (23.0)	70 (77.0)	
Diffuse	24 (45.3)	29 (54.7)	
Venous invasion			0.051
Negative	38 (35.5)	69 (64.5)	
Positive	7 (18.9)	30 (81.1)	
Lymphatic invasion			0.168
Negative	30 (34.9)	56 (65.1)	
Positive	15 (25.9)	43 (74.1)	
Serosal invasion			0.044
Negative	18 (45.0)	22 (55.0)	
Positive	27 (26.0)	77 (74.0)	
Lymph node metastasis			0.332
Negative	17 (37.8)	28 (62.2)	
Positive	28 (28.3)	71 (71.7)	
Distant metastasis			0.862
Negative	40 (31.5)	87 (68.5)	
Positive	5 (29.4)	12 (70.6)	

있다. 이미 인체의 여러 암종에서 VEGF의 발현이 종양의 혈관생성 정도, 전이와 환자의 불량한 예후와 관련이 있다고 보고된 바 있고 위암에서도 같은 결과를 보고하였다.(13,15,16) 본 연구에서는 VEGF에 대한 면역조직화학염

Table 2. Preoperative S-VEGF levels categorized by clinicopathologic variables

Variable	S-VEGF level (pg/mL)		p value
	Mean ± S.D.*	Median	
Sex			0.953
Male (n=79)	202.9 ± 29.4	196	
Female (n=37)	206.2 ± 49.2	195	
Age (years)			0.479
< 55 (n=49)	203.1 ± 44.4	195	
≥ 55 (n=67)	204.6 ± 30.2	196	
Tumor size (cm)			0.027
< 5 (n=54)	190.0 ± 41.9	188	
≥ 5 (n=62)	201.7 ± 22.5	198	
Gross type			0.109
Superficial or localized (n=49)	193.8 ± 14.1	192	
Infiltrative or diffuse (n=67)	205.2 ± 44.8	195	
Histologic type			0.743
Differentiated (n=41)	197.5 ± 19.0	195	
Undifferentiated (n=75)	201.5 ± 39.9	193	
Lauren type			0.630
Intestinal (n=66)	198.8 ± 22.6	194	
Diffuse (n=50)	202.7 ± 53.7	189	
Venous invasion			0.508
Negative (n=83)	196.8 ± 14.7	193	
Positive (n=33)	202.4 ± 38.7	194	
Serosal invasion			0.011
Negative (n=38)	189.7 ± 12.4	188	
Positive (n=78)	206.7 ± 42.2	197	
Lymph node metastasis			0.007
Negative (n=40)	189.7 ± 13.2	188	
Positive (n=76)	207.3 ± 42.6	196	
Distant metastasis			0.000
Negative (n=86)	198.1 ± 35.1	191	
Positive (n=30)	220.2 ± 36.8	206	

*S.D. = standard deviation.

색 결과 68.8%의 양성률을 보였고 장형 및 장막 침윤이 있는 위암조직에서 발현 빈도가 유의하게 높았으며, 통계적 의미는 없었지만 분화가 좋은 암조직에서 VEGF의 발현빈도가 높았다. 이러한 결과는 Takahashi 등(17)의 미만형보다 장형 위암조직에서 VEGF의 발현율이 높다는 보고와 Tanigawa 등(14)의 Borrmann 1형 및 2형, 분화가 좋은 위암 조직에서 발현율이 높다는 보고와 일치하여 VEGF가 주로 장형 위암의 혈관생성 및 성장이나 종양세포의 분화와 관련이 있음을 시사하므로 이에 대한 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각한다. 그러나 본 연구에서는

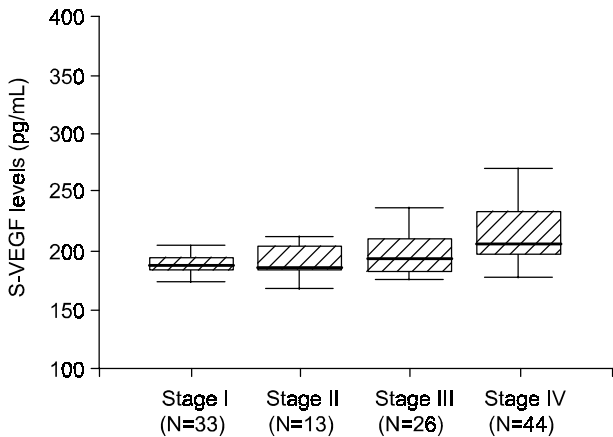


Fig. 4. Preoperative S-VEGF levels according to the UICC TNM stages. Values in the stage IV group were significantly greater than values in the stage I, II, or III groups ($P=0.000$ by Mann-Whitney U test), but there were no significant differences between other tumor stages.

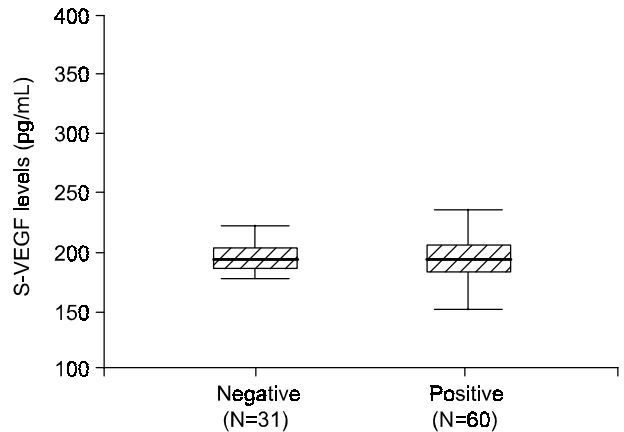


Fig. 6. Correlation between S-VEGF levels and tumor expression of VEGF evaluated by immunohistochemical staining. There was no significant correlation between the VEGF negative and the positive groups ($P=0.348$ by Mann-Whitney U test).

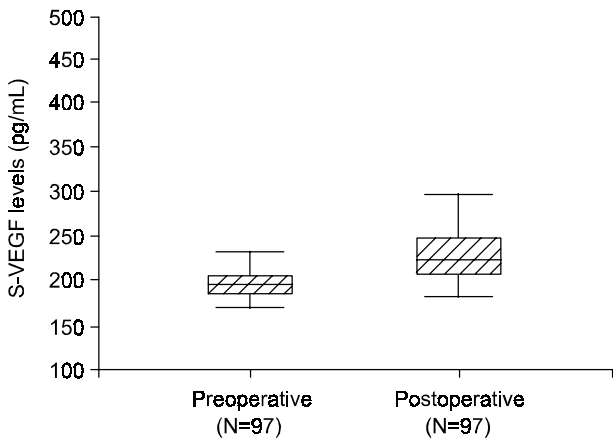


Fig. 5. Comparison between preoperative and postoperative S-VEGF levels. Postoperative S-VEGF levels were significantly elevated compared to the preoperative levels ($P=0.000$ by paired samples t-test). Postoperative measurements of S-VEGF were done 7 days after operations.

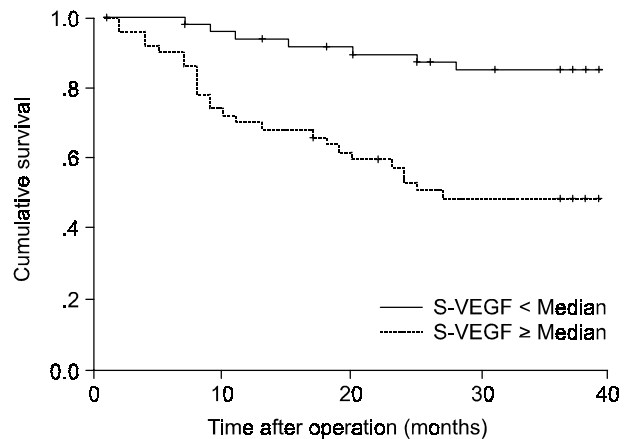


Fig. 7. Survival curves of 116 patients with gastric cancer according to the preoperative S-VEGF levels. The median (195 pg/mL) was used as the cut-off value. There was a significant difference in survivals between these 2 groups ($P=0.0001$ by log-rank test).

VEGF의 발현과 기타 임상병리학적 소견이나 환자의 예후와는 상관관계가 없어 이전의 보고와 같거나 혹은 다른 결과를 보였다. 특히 본 연구에서는 대상환자들의 평균 추적기간이 36개월로 짧았기 때문에 향후 2년 이상의 추적관찰 이후에 정확한 생존율 분석이 이루어질 것으로 생각된다.

VEGF의 위암조직 내 발현도는 43~88%로 다양하게 보고되고 있고, 조기위암에서도 80%의 양성률을 보고하였는데, (18) 본 연구에서와 같이 70% 이상의 높은 양성률을 보인 보고들은 대부분 VEGF의 발현과 환자의 임상병리학적 소견이나 예후와 상관관계가 없었다. (14,18) 이와 같

이 VEGF 염색결과는 양성 판독기준이나 통계방법에 따라 임상적 의의가 달라질 수 있으며, 그 외에도 사용한 항체, 염색 방법, 대상환자의 수, 추적기간에 따른 차이를 고려해야 한다. 따라서 반정량적 연구방법인 면역조직화학 염색은 Western blotting이나 RT-PCR 같은 정량적 연구의 보완이 필요하며, 최근에는 VEGF와 p53, urokinase-type plasminogen activator 등과 같은 암의 성장, 전이 인자들간의 상관관계에 대한 보고들도 많으므로 이에 대한 연구도 필요할 것으로 사료된다. (19,20)

본 연구결과 정상인의 혈액 내에서도 VEGF가 측정되었다고 하며 위암 환자의 경우 정상인에 비해 유의한 S-VEGF

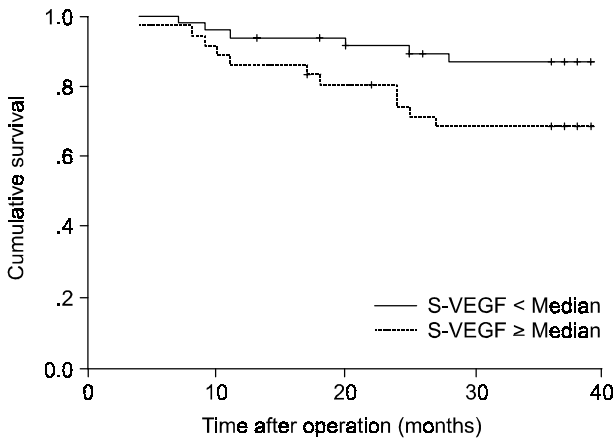


Fig. 8. Survival curves of 86 patients with gastric cancer who underwent curative resections according to the preoperative S-VEGF levels. The median (195 pg/mL) was used as the cut-off value. There was a significant difference in survivals between these 2 groups (P=0.0442 by log-rank test).

의 증가를 보였다. 그러나 정상인과 근치적 절제가 가능했던 환자의 S-VEGF 농도에는 차이가 없었고, 암의 국소 진행 혹은 원격전이 등으로 고식적 절제나 비절제가 된 환자의 경우 이들보다 S-VEGF가 유의하게 증가됨을 알 수 있었다. 정상인의 혈액 내에서 검출되는 VEGF는 혈소판, T 림프구, 대식세포 등에서 분비되는 것으로 알려져 있으며 그 역할에 대해서는 정확하게 알려진 바가 없다.(21,22) 그러나 혈액 내 일정량 유지되면서 순환되는 VEGF는 정상 혈관계의 유지, 즉 혈관내피세포의 수복, 신생 및 생존에 필요한 것으로 알려져 있다.(23,24) Kraft 등(25)은 정상인의 혈청 내에서 VEGF가 매우 일정하게 유지되고 검출되었으며 급성 바이러스 혹은 세균 감염 시에도 증가한다고 보고하였다. 본 연구에서도 급만성 질환이 없었던 정상인의 S-VEGF는 일정한 농도로 검출되었다. 따라서 암환자에서 검출되는 VEGF의 경우에도 암세포 이외의 다양한 경로, 즉 혈소판이나 종양주위 침윤 염증 세포 등에서 분비가 되는 것으로 알려져 있다. Gunsilius 등(22)과 Hyodo 등(26)은 혈액 응고기전으로 활성화된 혈소판이 VEGF의 주된 공급원이므로 특히 암환자에서는 혈정보다는 혈장(plasma)의 VEGF 농도 측정이 의의가 있으며, 혈청에서 측정을 한 경우 결과의 해석에 주의를 요하며 혈소판 수치에 의한 보정(correction)이 필요하다고 하였다. 그러나 Salven 등(24)은 암환자에서 S-VEGF의 증가는 혈소판에서 분비되는 것도 있지만 주로 암세포 자체에서 분비된다고 하였다. 그 기전으로 처음에 저산소 상태의 종양에서 분비되어 혈관 내로 유입된 VEGF는 반감기가 3분 정도로 짧고 체내에서 흡수가 되어 일정량 이하로 유지되다가 종양이 커지고 진행됨에 따라 VEGF 분비도 지속적으로 증가되면서 그 축적된 결과로 S-VEGF가

증가한다고 하였다.

본 연구에서는 종양이 클수록, 장막침윤과 림프절전이 및 원격전이가 있을 경우 S-VEGF가 유의하게 증가되어 VEGF가 위암의 진행과 밀접한 연관이 있음을 알 수 있었으며 환자의 불량한 예후와도 관련이 있었다. 그러나 병기가 I기, II기, III기의 경우 병기가 진행될수록 S-VEGF가 증가하는 경향은 보였으나 통계적 유의성은 없었고, 단지 IV기의 경우 유의한 증가를 보였다. 정상인과 각종 암환자의 S-VEGF를 비교한 여러 보고들(23-25)도 암이 국소적(loco-regional)인 경우에도 일부 증가할 수 있지만 대부분은 암이 확산(disseminated)된 경우에 S-VEGF가 주로 증가됨을 보고하였으며 이는 본 연구 결과와 일치하였다. Paley 등(28)과 Kumar 등(27)은 S-VEGF가 각각 난소암과 대장암의 초기 단계부터 증가하므로 암의 조기진단이나 재발 위험군의 예측에 유용할 것으로 보고하고 있다. 그러나 본 연구에서 수술 전 환자의 CEA와 S-VEGF를 비교한 결과(data not shown) 유의한 상관성(P=0.009 by Pearson's correlation)을 보였으나 CEA와 마찬가지로 암 초기에는 증가되지 않았다. 따라서 본 연구결과와 여러 문헌 고찰 결과 S-VEGF는 암이 어느 정도 진행이나 확산된 후에 증가되므로 아직은 암의 조기진단보다는 기존의 종양 표지자와 마찬가지로 재발이나 환자의 예후를 예측하는 인자로서 더 의의가 있을 것으로 생각된다.

본 연구에서는 수술 후 7일째 측정된 S-VEGF의 경우 수술 전에 비해 유의하게 증가하였는데 이는 VEGF가 창상 치유과정에도 분비가 증가되어 염증 수복에 중요한 역할을 하며 이러한 과정이 최소한 7일 이상 지속되는 것으로 해석할 수 있다. 그러나 Kraft 등(25)은 유방암 환자에서 수술 다음날, 백 등(29)은 위암 환자에서 수술 2주 후 측정된 결과 S-VEGF가 감소하였다고 보고하였으며, 유방암(23)과 난소암(30)에서 수술 후 종양의 재발 시 S-VEGF가 증가한다고 보고하는 등 본 연구와는 다른 결과를 보였다. 따라서 위암 환자에서 수술 후 시기에 따른 S-VEGF 농도의 변화 및 재발에 따른 변화를 규명하기 위해서는 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각한다.

결론

위선암으로 수술을 시행한 환자에서 면역조직화학염색으로 확인한 암조직 내의 VEGF 발현은 장형 및 장막침윤이 있는 종양에서 유의하게 많았으나 기타 임상병리학적 소견이나 환자의 생존율간에 상관관계는 없었다. 그러나 위암 환자의 혈청 내에서 측정된 VEGF 농도는 암이 진행 및 확산됨에 따라 유의하게 증가되었으며, 환자의 불량한 예후와도 상관성을 보여 위암에서 유용한 예후인자로서의 가능성을 확인하였다. 하지만 위암의 조기발견이나 재발 여부를 진단할 수 있는 종양표지자로서의 역할에 대해

서는 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각한다.

REFERENCES

- 1) Folkman J, Shing Y. Minireview, angiogenesis. *J Biol Chem* 1992;267:10931-4.
- 2) Senger DR, Van de Walter L, Brown LF, Nagy JA, Yeo KT, Yeo TK, et al. Vascular permeability factor (VPF, VEGF) in tumor biology. *Cancer Metastasis Rev* 1993;12:303-24.
- 3) Cheung N, Wong MP, Yuen ST, Leung SY, Chung LP. Tissue-specific expression pattern of vascular endothelial growth factor isoforms in the malignant transformation of lung and colon. *Hum Pathol* 1998;29:910-4.
- 4) Senger DR, Peruzzi CA, Feder J, Dvorak HF. A highly conserved vascular permeability factor secreted by a variety of human and rodent tumor cell lines. *Cancer Res* 1986;46:5629-32.
- 5) 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;74:1105-15.
- 6) Mattern J, Koomagi R, Volm M. Vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis in non-small cell lung carcinomas. *Int J Oncol* 1995;6:1059-62.
- 7) Brown LF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Guidi AJ, Dvorak HF, et al. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in breast cancer. *Hum Pathol* 1995;26:86-91.
- 8) Salven P, Teerenhovi L, Joensuu H. A high pretreatment serum vascular endothelial growth factor concentration is associated with poor outcome in non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997;90:3167-72.
- 9) Brown LF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Manseau EJ, Senger DR, et al. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in adenocarcinomas in gastrointestinal tract. *Cancer Res* 1993;53:4727-35.
- 10) Yeo KT, Wang HH, Nagy JA, Sioussat TM, Ledbetter SR, Hoogewef AJ, et al. Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) in guinea pig and human tumor and inflammatory effusions. *Cancer Res* 1993;53:2912-8.
- 11) Kim KJ, Li B, Winer J, Armanini M, Gillett N, Philips HS, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumor growth in vivo. *Nature* 1993;362:841-4.
- 12) Yoo CH, Noh SH, Shin DW, Choi SH, Min JS. Recurrence following curative resection for gastric carcinoma. *Br J Surg* 2000;87:236-42.
- 13) Maeda K, Chung YS, Ogawa Y, Takatsuka S, Kang SM, Ogawa M, et al. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma. *Cancer* 1996;77:858-63.
- 14) Tanigawa N, Amaya H, Matsumura M, Shimomatsuya T. Correlation between expression of vascular endothelial growth factor and tumor vascularity, and patient outcome in human gastric carcinoma. *J Clin Oncol* 1997;15:826-32.
- 15) Ikeguchi M, Oka S, Saito H, Kondo A, Tsujitani S, Maeta M, et al. The expression of vascular endothelial growth factor and proliferative activity of gastric cancer. *Langenbecks Arch Surg* 1999;384:264-70.
- 16) Han SU, Ryu KS, Soh EY, Joo HJ, Cho YK, Kim MW. Role of vascular endothelial growth factor in the progression of gastric carcinomas. *J Korean Surg Soc* 1999;57:224-31.
- 17) Takahashi Y, Cleary KR, Mai M, Kitadai Y, Bucana CD, Ellis LM. Significance of vessel count and vascular endothelial growth factor and its receptor (KDR) in intestinal-type gastric cancer. *Clin Cancer Res* 1996;2:1679-84.
- 18) Kim YS, Cho HD, Park SH, Kim DW, Kim DS, Choi JS, et al. Vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor expression in early gastric carcinomas: correlation with clinicopathologic factors. *J Korean Cancer Assoc* 2000;32:986-96.
- 19) Kang SM, Maeda K, Onoda N, Chung YS, Nakata B, Nishiguchi Y, et al. Combined analysis of p53 and vascular endothelial growth factor expression in colorectal carcinoma for determination of tumor vascularity and liver metastasis. *Int J Cancer* 1997;74:502-7.
- 20) Berney CR, Yang JL, Fisher RJ, Russell PJ, Crowe PJ. Vascular endothelial growth factor expression is reduced in liver metastasis from colorectal cancer and correlates with urokinase-type plasminogen activator. *Anticancer Res* 1998;18:973-7.
- 21) Freeman MR, Schneck FX, Gagnon ML, Corless C, Soker S, Niknejad K, et al. Peripheral blood T lymphocytes and lymphocytes infiltrating human cancers express vascular endothelial growth factor: a potential role for T cells in angiogenesis. *Cancer Res* 1995;55:4140-5.
- 22) Gunsilius E, Petzer A, Stockhammer G, Nussbaum W, Schumacher P, Clausen J, et al. Thrombocytes are the major source for soluble vascular endothelial growth factor in peripheral blood. *Oncology* 2000;58:169-74.
- 23) Yamamoto Y, Toi M, Kondo S, Matsumoto T, Suzuki H, Kitamura M, et al. Concentrations of vascular endothelial growth factor in the sera of normal controls and cancer patients. *Clin Cancer Res* 1996;2:821-6.
- 24) Salven P, Maenpaa H, Orpana A, Alitalo K, Joensuu H. Serum vascular endothelial growth factor is often elevated in disseminated cancer. *Clin Cancer Res* 1997;3:647-51.
- 25) Kraft A, Weindel K, Ochs A, Marth C, Zmija J, Schumacher P, et al. Vascular endothelial growth factor in the sera and effusions of patients with malignant and nonmalignant disease. *Cancer* 1999;85:178-187.
- 26) Hyodo I, Doi T, Endo H, Hosokawa Y, Nishikawa Y, Tani-

- mizu M, et al. Clinical significance of plasma vascular endothelial growth factor in gastrointestinal cancer. *Eur J Cancer* 1998;34:2041-5.
- 27) Kumar H, Heer K, Lee PWR, Duthie GS, MacDonald AW, Geenman J, et al. Preoperative serum vascular endothelial growth factor can predict stage in colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 1998;4:1279-85.
- 28) Paley PJ, Staskus KA, Gebhard K, Mohanraj D, Twigg LB, Carson LF, et al. Vascular endothelial growth factor expression in early stage ovarian carcinoma. *Cancer* 1997;80:98-106.
- 29) Baick SH, Lee GT, Park SG, Won JH, Hong DS, Park HS. Relationship between disease progression and angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor in patients with stomach cancer. *J Korean Cancer Assoc* 2000;32:297-303.
- 30) Yamamoto S, Konishi I, Mandai M, Kuroda H, Komatsu T, Nanbu K, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in epithelial ovarian neoplasms: correlation with clinicopathology and patient survival, and analysis of serum VEGF levels. *Br J Cancer* 1997;76:1221-7.
-