

유방암환자에서 종양 신생혈관형성과 bcl-2 발현과의 연관성

연세대학교 의과대학 ¹외과학교실, ²해부병리학교실

김도일¹ · 이희대¹ · 정우희²

Association of Tumor Angiogenesis with bcl-2 Expression in Breast Cancer Patients

Do Yil Kim, M.D.¹, Hy De Lee, M.D.¹ and Woo Hee Jung, M.D.²

Departments of ¹General Surgery and ²Pathology
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: To evaluate the prognostic significances of angiogenesis and bcl-2, and association of each other, we investigated the correlation of microvessel count for angiogenesis and bcl-2 expression in breast cancer.

Materials and Methods: We analysed immunohistochemistry staining from paraffin blocks in a series of 145 women with breast cancer. Immunohistochemical staining to detect factor VIII-related antigen highlighted the microvessels within primary invasive breast carcinoma. Using light microscopy, we counted microvessels per 200X field in the most active areas of neovascularization. To determine the bcl-2 immunoreactivity, we used a monoclonal antibody directed against the bcl-2 protein.

Results: The median of microvessel count (MVC) was 31.5, and the proportions of tumors with low and high MVC were 51% and 49%. Eighty (55.2%) cancers showed the bcl-2 immunoreactivity in the cytoplasm. The microvessel count were correlated with lymph node status ($p < 0.001$), tumor size ($p = 0.001$), and lymphatic invasion around tumor ($p = 0.009$). bcl-2 expressions were corelated with estrogen receptor positivity ($p < 0.001$) and progesterone receptor positivity ($p = 0.029$). The microvessel counts were negatively correlated with bcl-2 expression ($p = 0.006$).

Conclusion: This study suggest that the angiogenesis which was investigated by microvessel counts was negatively correlated with bcl-2 expression.

Key Words: Breast cancer, Angiogenesis, bcl-2

서 론

암의 신생혈관형성(Angiogenesis)은 암의 성장과 전이 과정에 필수적인 것으로 혈관생성 항진 물질인 섬유아세포성장인자(fibroblast growth factor)나 혈관내막세포성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF)의 분비 증가와, 혈관형성 억제 물질인 thromboplastin-1이나 암에서 분비되는 angiostatin의 분비 감소로 인해 형성이 촉진된다. 암종 내에 신생혈관이 형성되면 종양으로 혈액의 관류량이 많아지고 여러 성장 인자에 노출되어 그 성장이 증대되고 쉽게 전이될 수 있다. 이러한 신생혈관은 여러 가지 혈관 특이 항체를 이용하여 면역조직화학 염색 후 미세혈관의 수(microvessel count, MVC)를 세어 정량적인 분석이 가능하다. 특히 침윤성 유방암의 전이와 미세혈관의 수에는 유의한 상관 관계가 있어 독자적인 예후 예측인자로 보고되고 있다.

bcl-2 protooncogen은 아포토시스를 조절하는 인자로, 이것의 발현은 c-myc이나 성장인자의 결손으로 유도되는 아포토시스를 차단할 수 있으며, 또한 호르몬요법과 항암화학요법의 반응에 영향을 주는 것으로 보고되고 있다. 최근의 보고에 따르면 높은 bcl-2의 발현은 좋은 예후 예측인자들(에스트로겐 수용체 양성, 프로세스테론 수용체 양성, 림프절 전이여부 등)과 상관관계를 보이며, 단일 변량분석 상에서도 비례 상관 관계가 보고되고 있다.

이에 본 저자들은 유방암을 대상으로 면역조직화학 염색을 이용하여 신생혈관 형성과 bcl-2의 발현을 조사하여 두 인자사이에 상관관계를 규명하고, 유방암의 종양학적 행동양상 및 예후 예측인자로 확립되어 있는 인자들과의 연관관계를 규명하고자 하였다.

대상 및 방법

영동세브란스병원 외과에서 1991년 3월 이후

조직학적으로 유방암진단을 받은 환자 700예 중 파라핀 포매 조직의 이용이 용이한 환자 145예를 대상으로 하여 진단시 연령, 수술방법, 종양의 크기, 림프절 전이여부, 에스트로겐과 프로세스테론 수용체의 발현, 조직학적 세포등급 및 핵등급, 관상피내암의 정도(EIC: extensive intraductal component), 종양주위 림프관 침습 및 혈관 침습여부 등을 조사하였다. 대상 환자들의 추적기간의 중간값은 26.3개월이었다.

1) 종양 신생혈관 형성의 면역조직학적 평가

파라핀에 포매된 유방암 원발병소 조직을 4 μ m 두께로 연속 절편하여 poly-L-lysine처리된 slide에 붙인 후 xylene에 탈랍시키고 알콜에 함수시킨 후 10분간 3% H₂O₂에 처리하여 내인성 과산화 효소를 차단하였다. 단백분해 효소인 pepsin에 30분간 처리 후 차단혈청 반응을 시키고 Factor VIII 관련 항원에 대한 monoclonal antibody를 실온에서 60분간 반응시켰다. 다시 Tris 완충용액으로 5분간 수세하고 바이오틴이 부착된 이차항체를 30분간 작용시키고 다시 Tris 완충용액으로 수세하였다. Streptavidin-peroxidase reagent로 실온에서 20분간 처리한 후 다시 Tris 완충용액으로 수세하였다. 위 과정은 Streptavidin-Biotin Universal detection kit (Ultratech HRP, Immunotech, France)를 이용하여 수행하였으며 diaminobenzidine (Immunotech, France)으로 발색한 후 Mayers hematoxylin으로 대조염색하였고 봉입하였다. 양성대조군으로 신생혈관이 풍부한 육아조직을 사용하였다.

염색결과에 판정은 화상분석프로그램(Image-plus)을 이용하여, 200배 시야에서 혈관밀도가 높은 3부위를 선택 후 미세혈관수를 측정하여 그 평균을 구하였다. 이때 혈관 직경이 RBC 직경의 5배가 넘거나 두꺼운 근육층을 가지고 있는 혈관은 임의로 계산에서 제외하였다. 전체 환자의 미세혈관수의 중간값을 기준으로 그 이상은 양성, 그 미만은 음성으로 정하여 판정하였다.

2) Bcl-2의 면역조직화적 검색

각 예의 조직 표본 중 조직학적 분류형을 대표 할만한 블록을 2개 이상 선택하여 4 μm 두께로 연속 절편하였다. 파라핀을 제거한 조직절편을 5 분간 Tris 완충용액으로 수세 후 항원성 회복을 위하여 10 mM citrate 완충용액(PH 6.0)에 담구어 5분간 극초단파로 가열하였다. 가열 후 상온에서 20분간 식힌 다음 Tris 완충용액으로 5분간 수세 후 endogenous peroxidase reagent로 처리하고, 다시 Tris 완충용액으로 수세한 후 avidin-biotin complex method로 염색하였다. Normal horse serum (Vector Laboratories Inc. Burlingame, CA)로 슬라이드를 배양하여 비특수염색을 제거한 후 슬라이드를 bcl-2 에 대한 일차 항체(clone 124, DAKO)를 사용하여 4°C로 밤새 배양하였다. Streptavidin-peroxidase reagent로 실온에서 20분간 처리한 후 다시 Tris 완충용액으로 수세하였다. 위 과정은 Streptavidin-Biotin Universal detection kit를 이용하여 수행하였으며 diaminobenzidine으로 발색한 후, Mayers hematoxylin으로 대조염색하였고 봉입하였다. Primary antibody를 첨가하지 않은 절편을 Tris 완충용액에 수세하여 음성 대조군으로 삼았고, Follicular lymphoma의 절편을 bcl-2에 대한 양성 대조군으로 삼았다. 모든 슬라이드는 임상결과나 병리 조직적 자료를 모르는 상태에서 면역염색에 대한 평가를 하였다. Bcl-2에 대한 염색은 10% 이상의 cytoplasmic staining을 보이는 경우를 양성으로 하였다.

3) 통계처리

수집된 자료는 SPSS 통계프로그램을 이용하여 개인용 컴퓨터로 분석하였다. 신생혈관 형성과 bcl-2의 발현 유무에 따른 여러 예후인자와의 연관성은 chi-square test를 이용하여 비교하였으며, 각 예후인자에 따른 미세 혈관수의 차이는 student t test로 검정하였고, 신생혈관 형성과 bcl-2에 따른 생존곡선은 Kaplan-Meier 방법으로 구하고 log rank test로 평가하였다.

결 과

1) 임상소견

환자들의 평균나이는 46.7세로 22세부터 79세 까지 다양하였고 유방암의 병기는 stage I이 33예(27.6%), stage IIA가 47예(32.4%), stage IIB가 54예(37.2%), stage IIIA가 9예(6.2%), stage IIIB가 2예(1.4%)였다. 수술방법은 변형 근치 유방절제술이 91예(62.8%), 부분유방절제술이 47예(32.4%)였고, 유방전절제술이 2예, 표준 근치 유방절제술을 시행한 경우도 4예에서 있었다.

추적기간 중 재발 및 전이가 관찰된 경우는 27예였고(18.6%), 사망한 경우는 11예(7.6%)였다.

2) 신생혈관형성

신생혈관형성을 보기 위해 측정된 미세 혈관수는 평균 34.1개로 최소 13.2개에서 87.2개까지 분포하였고, 그 중간값은 31.5개였다. 미세혈관수가 중간값 이상으로 많은 경우가 71예(49.0%)였고 중간값 미만으로 적은 경우는 74예(51.0%)였다.

3) bcl-2 면역조직 검색

면역조직염색 상 10% 이상의 cytoplasmic staining이 있는 경우를 양성으로 보았을 때 80예가 양성으로 그 양성률은 55.2%였다.

4) 미세혈관 수 및 bcl-2 발현과 다른 예후인자와의 관계(Table 1, 2)

기존의 여러 예후인자와 신생혈관형성의 관계를 보기 위해 각각의 예후인자들과 미세혈관수의 평균을 비교하였을 때 종양의 크기가 클수록(p=0.001), 림프절 전이가 있을 경우(p<0.001) 및 중앙주위 림프관 침윤이 있을 때(p=0.009) 신생혈관이 많음을 알 수 있었으며 이는 통계적으로 유의하게 차이가 관찰되었다. 그러나 호르몬 수용체의 양성 여부나 종양 세포의 분화도 등과는 상관관계를 관찰할 수 없었다.

Bcl-2의 발현은 에스트로겐 수용체의 양성률(p<

Table 1. Microvessel counts and bcl-2 cytoplasmic immunoreactivity in relation to other prognostic factors

	Microvessel count		p-value	Bcl-2		p-value
	N	mean \pm SD*		(-)	(+)	
T-stage						
T1	44	28.65 \pm 9.25	p=0.001	17 (26.2%)	27 (33.8%)	NS [†]
T2	85	35.58 \pm 14.05		37 (56.9%)	48 (60.0%)	
T3	16	41.22 \pm 15.44		11 (16.9%)	5 (6.3%)	
Node status						
Negative	58	27.05 \pm 6.92	p<0.001	21 (32.8%)	37 (46.3%)	NS
Positive	86	38.87 \pm 14.78		43 (67.2%)	43 (53.8%)	
ER status						
Negative	57	33.47 \pm 13.08	NS	36 (60.0%)	21 (28.8%)	p<0.001
Positive	76	35.74 \pm 14.13		24 (40.0%)	52 (71.2%)	
PR status						
Negative	55	34.82 \pm 13.41	NS	31 (51.7%)	24 (32.9%)	p<0.05
Positive	78	34.72 \pm 13.97		29 (48.3%)	49 (67.1%)	
HG [‡]						
HG 1	38	31.33 \pm 11.80	NS	11 (16.9%)	27 (35.1%)	p<0.05
HG 2	69	36.04 \pm 15.25		34 (52.3%)	35 (45.5%)	
HG 3	35	32.89 \pm 10.01		20 (30.8%)	15 (19.5%)	
NG [§]						
NG 1	18	34.41 \pm 13.11	NS	5 (7.9%)	13 (17.1%)	NS
NG 2	72	33.96 \pm 15.23		30 (47.6%)	42 (55.3%)	
NG 3	49	33.84 \pm 10.72		28 (44.4%)	21 (27.6%)	
LI						
Negative	69	29.16 \pm 9.01	p=0.009	23 (76.7%)	46 (95.8%)	p=0.010
Positive	9	38.16 \pm 12.23		7 (23.3%)	2 (4.2%)	
VI [¶]						
Negative	73	29.67 \pm 8.93	p=0.071	28 (93.3%)	45 (93.8%)	NS
Positive	5	37.84 \pm 18.06		2 (6.7%)	3 (6.3%)	
EIC ^{**}						
Negative	95	34.33 \pm 12.68	NS	49 (80.3%)	46 (63.9%)	p<0.05
Positive	38	34.00 \pm 15.16		12 (19.7%)	26 (36.1%)	

*standard deviation, [†]Not significant, [‡]Histologic grade, [§]Nuclear grade, ^{||}Lymphatic invasion, [¶]Vascular invasion, ^{**}Extensive intraductal component

0.001)과 프로게스테론 양성률(p=0.029)과 통계적으로 유의한 강한 상관관계를 관찰할 수 있었으나, 종양의 크기, 림프절의 전이여부 등 다른 인자들과는 상관관계를 관찰할 수 없었다(Table 1).

bcl-2의 발현에 따른 미세혈관수를 측정해보면 bcl-2가 음성일 때 36.39 \pm 13.17, bcl-2 양성일 경우는 32.24 \pm 13.51로 bcl-2가 음성일 경우 미세 혈관

수가 더 적은 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었고(p=0.065), 신생혈관의 양성률과 bcl-2의 발현의 상호관계를 분석해보면 서로의 발현사이에는 반비례하는 관계를 관찰할 수 있었는데 이는 통계적으로 유의한 연관성으로 조사되었다(p=0.006)(Table 2).

Table 2. Microvessel count and angiogenesis positivity in relation to bcl-2 immunoreactivity

	N	Microvessel count	p-value	Angiogenesis		p-value
		Mean ± Std. Deviation		(-)	(+)	
bcl-2 Negative	65	36.3923 ± 13.1711	0.065	25	40	0.006
bcl-2 Positive	80	32.2400 ± 13.5084		49	31	

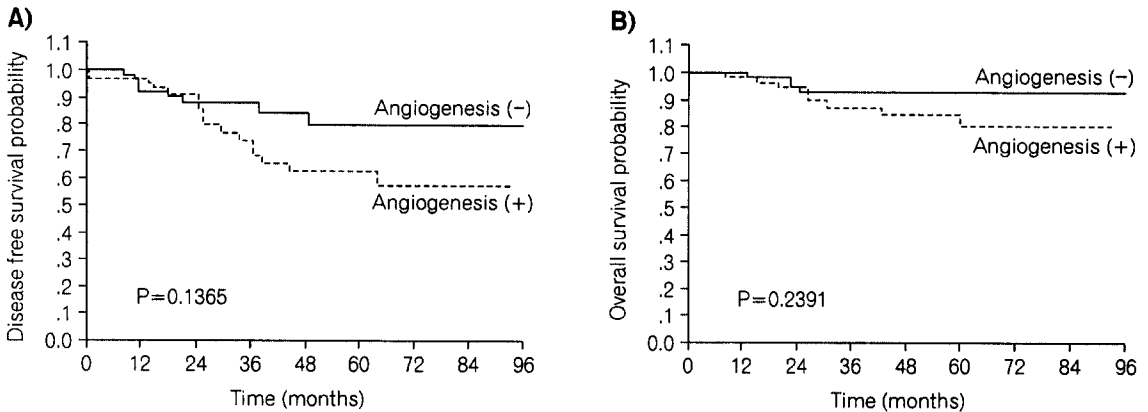


Fig. 1. Kaplan-Meier survival plots by angiogenesis positivity. A) Disease free survival, B) overall survival (angiogenesis (-) group: 74 cases, angiogenesis (+) group: 71 cases)

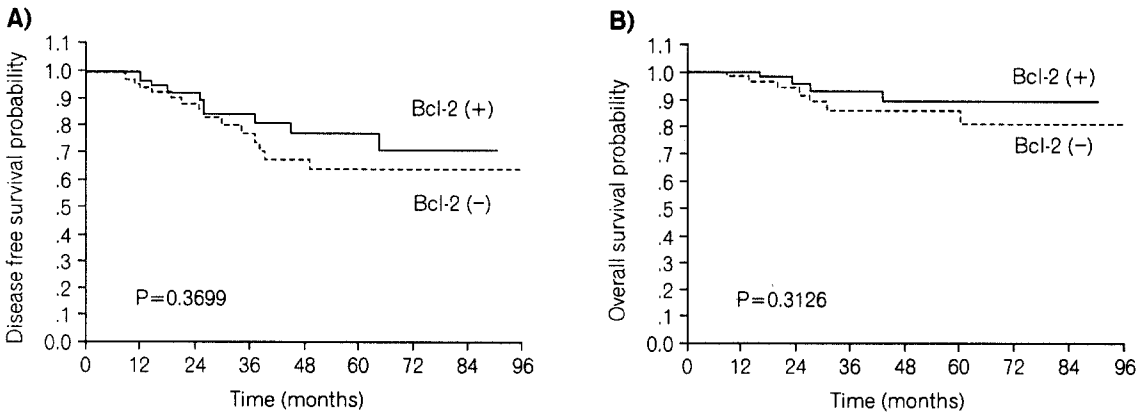


Fig. 2. Kaplan-Meier survival plots by bcl-2 expression. A) Disease free survival, B) overall survival (bcl-2(+) group: 80 cases, bcl-2(-) group: 65 cases)

5) 신생혈관형성 및 bcl-2 발현과 생존율

신생혈관형성이 양성인 군은 5년 생존율이 81%로 신생혈관음성인 군의 93%와 비교하여 나쁜 예

후를 보였으며(p=0.2391), 5년 무병생존율의 경우도 62.5%와 80%로 같은 양상을 보였으나(p=0.1365), 통계적 유의성은 없었다(Fig. 1).

bcl-2 양성 발현을 보인 군에서의 5년 생존율은

89%로 음성인 군의 82%보다 높았으며($p=0.3126$), 무병생존율도 82%로 음성인 군의 69%보다 높았으나($p=0.3699$) 통계적인 유의성은 관찰할 수 없었다(Fig. 2).

고 찰

한국에서 여성에게 발생하는 암종 중 유방암은 3번째로 많은 부분을 차지하지만(1) 그 빈도는 1990년 통계에 따르면 100,000명당 약 6.3명으로 다른 나라의 빈도에 비해 상대적으로 낮은 편이다. 그러나 유방암에 의한 사망률은 1981년 100,000명당 1.41명에서 1990년 1.79명으로 계속 증가하는 추세이다.

과거부터 유방암의 치료를 위하여 수술 요법, 방사선 요법, 화학요법, 호르몬 요법, 면역 요법 등의 여러 가지 치료 방법이 시행되었으나, 이러한 치료법보다는 오히려 유방암의 예후는 병기에 따라 많은 차이를 보이며, 특히 액와 림프절 전이는 가장 중요한 예후인자로 사용되어 왔다. 그러나 액와 림프절 전이가 없는 제1기 유방암인 경우에 10년 생존율이 약 70%로, 액와 림프절 전이가 없음에도 불구하고 약 20~30%에서 재발 및 전이를 보여 사망에 이르게 된다(2). 이런 고위험군 환자에서는 근치적 수술이나 방사선 치료와 같은 일차적 치료 후 재발 및 전이를 방지하기 위하여 보조적 요법을 시행하여야만 한다.

그러나 보조 화학요법이나 방사선 요법 등은 여러 가지 부작용이 있고 재발 및 전이가 예견되지 않는 저위험군에서는 불필요한 치료가 되므로 고위험군과 저위험군을 구별할 수 있는 예후인자의 개발이 부각되었다. 특히 암의 전이는 대부분의 유방암 환자의 주 사망 원인이다(2). 암의 전이는 다단계의 과정을 거쳐 발생하는 것으로 암세포의 이동, 침윤, 신생 혈관형성, 그리고 숙주의 면역체계로부터의 회피 등의 과정들이 밝혀지고 있으나, 유전자 수준에서 어떠한 조절이 일어나고 있는가에 대해서는 많은 연구가 필요한 실정이며, 전이와 연관된 전이 촉진인자나 억제인자에

대한 연구는 새로운 예후인자의 개발 면이나 수술 후 부가적 항암요법의 지표 설정에 많은 도움이 될 것으로 생각된다.

Mammary epithelial homeostasis는 세포 증식과 유전적으로 계획된 자동적 세포 사망의 과정인 아포토시스의 비율에 의존한다. 신생혈관 형성은 새로운 혈관의 형성을 일으키는 과정으로 종양의 성장은 이런 신생혈관형성에 의존한다고 알려져 있다(3). 유방암에 있어서도 아포토시스의 억제와 신생혈관형성의 증가가 생물학적인 악성화에 중요한 역할을 하리라고 생각되지만 그 유선의 종양형성에 있어서 정확한 분자 유전학적인 기전은 아직 밝혀지지 않고 있다.

아포토시스의 경로와 신생혈관의 상태가 유방암의 발생기전에 관여하는 유발인자와 억제인자 등 수 많은 조절인자에 의해 조절된다는 많은 연구 결과들이 보고되고 있으며, 신생혈관의 억제는 아포토시스의 증가에 의한 종양성장을 제한한다고 한다. 몇 개의 임상 연구들은 아포토시스와 신생혈관형성이 유방암에서 중요한 예후인자이며 또한 항암치료에 대한 반응을 예측할 수 있는 인자로 보여진다고 하였다(4~6).

암의 신생혈관 형성은 암의 성장과 전이 과정에 필수적인 것으로(4,7) 혈관생성 항진 물질인 섬유아세포성장인자나 혈관내막세포 성장인자의 분비 증가와, 혈관형성 억제 물질인 thromboplastin-1이나 암에서 분비되는 angiostatin의 분비 감소로 인해 형성이 촉진된다(8). 특히 VEGF는 가장 중요한 혈관 생성 항진 물질로 혈관 내막세포의 VEGF 수용체(VEGF-R)와 결합하여 작용하며 상호간의 자가 항진 능력을 가진다(9,10). 뿐만 아니라 VEGF는 여러 종류의 성장인자, 저 산소상태, 세포의 분화, 스테로이드 호르몬, 종양 유전자 등에 의해 조절되는 것으로 알려지고 있다. 종양은 신생혈관이 형성되지 못하면 2~4 mm 이상 자랄 수가 없으며(11) 비로소 신생혈관이 형성되면 종양으로 혈액의 관류량이 많아지고 여러 성장 인자에 노출되어 그 성장이 증대되고 쉽게 전이될 수 있다. 이러한 관점에서 볼 때 미세혈관의 형성

정도는 당연히 종양의 악성도, 전이상태, 그리고 생존율과 관계가 깊을 것으로 생각된다.

종양의 신생혈관은 여러 가지 혈관 특이 항체를 이용하여 면역조직화학 염색 후 미세혈관의 수를 세어 정량적인 분석이 가능하다. 특히 침윤성 유방암의 전이와 미세혈관의 수에는 유의한 상관 관계가 있어 독자적인 예후 예측인자로 보고되고 있다(12). 저자들의 연구에서도 미세혈관 수를 측정하여 관찰한 종양의 신생혈관 형성의 정도는 기존의 가장 강력한 예후인자인 종양의 크기 및 림프절 전이여부와 강한 상관관계를 나타내었고(Table 1) 생존율에 있어서도 통계적인 유의성은 없었지만 신생혈관 형성이 많은 군에서 무병생존율과 전체 생존율 모두 감소되어 있음이 관찰되었다.

아포토시스는 다세포생물의 세포적인 항상성을 유지하기 위한 정상적이고 생리적인 세포 사멸 과정이다. 이는 active cell death와는 구별되는 용어로서 특징적인 핵 주변의 chromatin의 응집과 oligonucleosome 크기의 분절로 DNA가 절단되는 것을 관찰할 수 있다. 종양에서의 세포사멸도 주로 아포토시스의 유도에 의해 야기된다(13). 종양 형성에 있어서 아포토시스의 역할은 최근에 적극적으로 연구되고 있으며 아포토시스가 종양의 발생과 성장에 중요한 역할을 한다는 연구결과가 나오고 있다(14).

bcl-2 protooncogen은 아포토시스를 조절하는 인자로(15), 이것의 발현은 c-myc이나 성장인자의 결손, 그리고 항암화학요법제 등을 포함한 다양한 자극에 의해 유도되는 아포토시스를 억제하는 것으로 보고되고 있다. 이런 이유로 bcl-2 단백질의 과발현은 항암화학요법에 대한 저항성에 중요한 역할을 할 것으로 가정되었고 이것은 신경아세포종과 급성 골수성 백혈병에서 증명되었다. bcl-2 gene은 bcl-X와 bax를 포함하는 gene family의 한 구성원으로(16) bcl-2의 면역반응은 mitochondria의 외막과 핵막 및 세포막에서 확인되었고 그 기능은 bax protein과의 heterodimerization이 중요한 것으로 최근의 연구에서 밝혀지고 있다(17). 유방암

에서도 bcl-2의 발현이 혼한 것으로 보고되었으며 bcl-2의 존재와 에스트로겐 수용체의 양성률사이 에 강한 연관성이 보고되어(18) 호르몬요법과 항암화학요법의 반응에 영향을 주는 것으로 보고되고 있다(19,20). 그러나 림프절 전이여부나 종양의 크기나 분화도와의 연관성을 관찰할 수 없었으며, p53와 c-erbB2 단백질의 면역 화학염색과는 반비례의 관계가 관찰되었다(18,21). 이런 이유로 다양한 항암화학요법제들은 아포토시스를 유도하지만 bcl-2의 발현이 강하면 이런 항암화학요법에 의한 아포토시스가 억제되어 이들 약제의 효과를 감소시키게 되고 이런 과정에 의해 bcl-2의 발현은 항후 치료에 잘 반응하지 않을 예후 예측인자로 생각하였으나, 최근의 보고들은 유방암에서의 높은 bcl-2 발현은 좋은 예후인자라고 주장하고 있고, 더불어 유방암에서 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체 그리고 고분화도와 같은 좋은 예후 예측 인자들과 상관관계가 있다고 보고되고 있다(18,22~25). 저자들의 연구에서도 bcl-2의 과발현을 보이는 군에서 호르몬 수용체의 양성률이 더 높음을 관찰할 수 있었으며, 역시 통계적인 유의성은 없었지만 5년 무병생존율과 전체생존율 역시 bcl-2 과발현군에서 높았음을 관찰할 수 있었다.

신생혈관형성과 bcl-2의 발현 상호간에는 통계적으로 의의 있는 반비례관계를 관찰할 수 있었다(Table 2). 이는 신생혈관 형성이 많아져 세포의 수가 증가하게 되면 숙주의 반응에 의해서든 종양자체의 조절에 의해서든 증가된 세포의 수를 줄이기 위해 bcl-2의 발현이 억제되어 아포토시스를 증가시키려는 반응으로 생각해 보았으나 아마도 세포주를 통한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

유방암 환자에 있어서 신생혈관형성의 증가는 종양의 크기나 림프절 전이 양성률 및 종양주위 림프관 침윤 등 예후가 나쁠 것으로 생각되는 인자들과 유의한 상관관계를 가지며, bcl-2의 발현은 에스트로겐 수용체 양성률 및 프로게스테론

수용체 양성률과 유의한 상관관계를 나타내어 호르몬치료에 대한 반응률에 영향을 미칠 것으로 생각되어 진다.

신생혈관형성과 bcl-2의 발현을 사이에는 반비례관계를 보였으나 이에 대한 기전이나 관련 인자에 대해서는 앞으로 더 많은 연구가 필요하리라 사료된다.

참 고 문 헌

1. Ministry of Health and Social Affairs. One Year's Report for Cancer Registry Programme in the Republic of Korea. J Korean Cancer Assoc 1986; 18: 59-156.
2. Sigurdsson H, Baldetorp B, Borg A. Indications of prognosis in node-negative breast cancer. N Engl J Med 1989; 320: 525.
3. Folkman J. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. N Engl J Med 1971; 285: 1182-1186.
4. Horak E, Leek R, Klenk N, LeJeune S, Smith K, Stuart N, Greenall M, Stepniewaska K, Harris AL. Angiogenesis, assessed by platelet/endothelial cell adhesion molecule antibodies, as indicator of node metastases and survival in breast cancer. Lancet 1992; 340: 1120-1124.
5. Toi M, Kashitani J, Tominaga T. Tumor angiogenesis is an independent prognostic indicator of primary breast carcinoma. Int J Cancer 1993; 55: 371-374.
6. Gasparini G, Weidner N, Bevilacqua P, Maluta S, Dalla Palma P, Caffo O, Barbareschi M, Boracchi P, Marubini E, Pozza F. Tumor microvessel density, p53 expression, tumor size, and peritumoral lymphatic vessel invasion are relevant to prognostic markers in node negative breast carcinoma. J Clin Oncol 1994; 12: 454-466.
7. Cavallo T, Sade R, Folkman J, Cotran RS. Tumor angiogenesis: Rapid induction of endothelial mitosis demonstrated by autoradiography. J Cell Bio 1972; 54: 408-420.
8. Folkman J. Tumor angiogenesis In: Mendelsohn J, Howley P, Liotta L, Israel M (eds) The molecular basis of cancer. WB Saunders, Philadelphia, 1995, pp206.
9. Breier G, Albrecht U, Sterr S, Risau W. Expression of vascular endothelial growth factor during embryonic angiogenesis and endothelial cell differentiation.

Development 1992; 114: 521-532.

10. Shweiki K, Itin A, Neufeld G, Gitay-Goren H, Keshet E. Patterns of expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptor in mice suggest a role in hormonally regulated angiogenesis. J Clin Invest 1993; 91: 2235-2243.
11. Folkman J. The role of angiogenesis in tumor growth. Semin Cancer Biol 1992; 3: 65-71.
- 12) Martin L, Green B, Renshaw C, Lowe D, Rudland P, Leinster SJ, Winstanley J. Examining the technique of angiogenesis assessment in invasive breast cancer. Br J Cancer 1997; 76: 1046-54.
13. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer 1972; 26: 239-257.
14. Marx J. Cell death studies yield cancer clues. Science 1993; 259: 760-761.
15. Bissonnette RP, Echeverri F, Mahboubi A, Green DR. Apoptotic cell death induced by c-myc is inhibited by bcl-2. Nature 1992; 359: 552-554.
16. Boise LH, Gonzalez-Garcia M, Postema CE, Ding L, Lindsten T, Turka LA, Mao X, Nunez G, Thompson CB. Bcl-x, a bcl-2-related gene that functions as a dominant regulator of apoptotic cell death. Cell 1993; 74: 597-608.
17. Yin XM, Oltvai ZN, Korsmeyer SJ. Heterodimerization with Bax is required for bcl-2 to repress cell death. Curr Top Microbiol Immunol 1995; 194: 331-338.
18. Leek RD, Kaklamanis L, Pezzella F, Gatter KC, Harris AL. Bcl-2 in normal human breast and carcinoma, association with estrogen receptor-positive, epidermal growth factor receptor-negative tumors and in situ cancer. Br J Cancer 1994; 69: 135-139.
19. Warri AM, Huovinen RL, Laine AM, Martikainen PM, Harkoen PL. Apoptosis in toremifene-induced growth inhibition of human breast cancer cells in vivo and in vitro. J Natl Cancer Inst 1992; 85: 1412-1418.
20. Miyashita T, Reed JC. bcl-2 oncoprotein blocks chemotherapy-induced apoptosis in a human leukemia cell line. Blood 1993; 81: 151-157.
21. Silverstrini R, Veneroni S, Daidone MG, Benini E, Boracchi P, Mezzetti M, Di Fronzo G, Rilke F, Veronesi U. The bcl-2 protein: A prognostic indicator strongly related to p53 protein in lymph node-negative breast cancer patients. J Natl Cancer Inst 1994; 86: 499-504.
22. Koo JY, Lee HD, Jung WH. Clinicopathological

- correlation of bcl-2 and p53 immunohistochemistry in breast cancer. *J Korean Cancer Assoc* 1997; 29: 401-411.
23. Kerr JFR, Winterford CM, Harmon BV: Apoptosis: its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer* 2013; 73: 1994
24. Silvestrini R, Benini E, Veneroni S, Daidone M, Tomasic G, Squicciarini P, et al. p53 and bcl-2 expression correlates with clinical outcome in a series of node positive breast cancer patients. *J Clin Oncol* 1996; 14: 1604.
25. Lee HD, Koo JY, Jung WH. Correlations of bcl-2 expression with clinicopathological features in breast cancer. *Yonsei Med J* 1997; 38: 206-211.