

## 폐의 편평상피세포암에서 신생혈관형성과 림프절 전이 및 p53 유전자 발현율과의 상관관계

인하대학교 의과대학 병리학교실, 연세대학교 의과대학 병리학교실\* 및 흉부외과\*\*

김영식 · 신동환\* · 김영배 · 정경영\*\*

= Abstract =

### Correlation of Neovascularization, Lymph Node Metastasis and p53 Expression in Squamous Cell Carcinoma of Lung

Young Sik Kim, M.D., Dong Hwan Shin, M.D.\*, Young Bae Kim, M.D.  
and Kyoung Young Chung, M.D.\*\*

Department of Pathology, Inha and Yonsei\* University College of Medicine  
and Department of Chest Surgery, Yonsei University College of Medicine\*\*

Tumor growth and metastasis require neovascularization which is a process of generating new capillary blood vessels. So, inhibition of neovascularization may provide therapeutic potential to patients having angiogenesis-dependent cancer and accurate estimation of it can be used to predict prognosis of them. In histologic sections, neovascularization (angiogenesis) is determined by intratumoral microvessel density. Also, p53 is a tumor-suppressor gene found on chromosome 17p, and alterations (missense mutation or deletion) within the coding sequences of the gene are among the most frequent genetic changes detected in human neoplasms. The mutated product of p53 is a protein with abnormal conformation, impaired DNA-binding, and prolonged half-life, the latter of which results in immunohistochemically detectable levels within nuclei in nearly all neoplasms showing p53 gene mutation.

To investigate the interrelationship between tumor neovascularization, clinical stage, lymph node metastasis, and p53 expression rate in squamous cell carcinoma of lung, which is one of leading cause of cancer death in Korea, we analyzed 54 cases by counting the number of microvessel and expression rate of p53 which were immunohistochemically stained. Lymph node metastasis group showed higher neovascularization than metastasis free one ( $p=0.008$ ), and microvessel counts increased with increasing clinical stage. However, p53 expression rate is statistically insignificant between two groups ( $p=0.86$ ). Also, neovascularization was not correlated with p53 expression rate. Thus, neovascularization in squamous cell carcinoma of lung may be a valuable parameter of prognosis and these results support the idea that inhibition of angiogenesis can be a therapeutic method in squamous cell carcinoma of lung. And, p53 expression rate in squamous cell carcinoma of lung is independent of other prognostic factors such as clinical stage, and presence or absence of lymph node metastasis.

---

**Key Words:** Lung cancer, Neovascularization, (Angiogenesis), p53

<sup>1</sup> 본 연구는 1995년도 인하대학교 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

## 서 론

신생혈관형성(neovascularization)이란 기존 혈관으로부터 증식되는 일련의 과정을 통틀어 말하는데 이러한 과정은 혈관 기저막의 파괴, 혈관 내피세포의 세포외 기질로의 이동 및 증식, 혈관 기저막의 재형성 등의 과정을 거쳐 이루어지게 된다. 따라서 신생혈관은 세정맥, 세동맥 및 모세혈관 등의 미세혈관 형태로 나타나게 된다. 정상적으로 혈관의 내피세포는 대단히 안정되어 있고, 혈관 내피세포의 증식은 체내에서 엄격히 통제되므로 이러한 신생혈관형성은 개체의 발생, 배란, 염증 및 상처의 수복 외에는 관찰하기 힘들다<sup>1,2)</sup>. 그러나 이러한 신생혈관형성은 당뇨병성 망막증이나 관절염 등 비종양성 병변의 병인 기전으로 작용하며 특히 종양의 증식 및 전이에 있어 중요한 역할을 한다고 알려져 있다<sup>2-4)</sup>.

Folkman은 시험관내 종양세포 배양실험에서 혈관형성이 없는 경우 직경 1내지 2 mm 크기 이하의 결절만 형성하지 그 이상으로 성장할 수 없었고 이 종양세포를 조직에 이식시켜 숙주의 주변 조직으로부터 혈액을 공급받았을 경우에 종양이 2 mm 이상으로 성장하는 것을 증명하였다<sup>5-7)</sup>. 즉, 종양의 증식은 반드시 신생혈관의 증식이 선행되어야 가능한데, 이를 위해 종양세포가 직접 또는 종양세포 주위에 침윤하는 대식세포들로 하여금 간접적으로 혈관 내피세포의 이동 및 증식에 관여하는 각종 성장인자의 분비를 촉진하고, 혈관 기저막과 종양주위의 세포외 기질을 파괴하는 collagenase 등과 같은 단백질 분해효소도 분비하는 것으로 알려져 있다. 현재까지 알려진 신생혈관형성 촉진물질로 가장 중요한 것은 heparin에 결합하는 fibroblast growth factor 들로 혈관 내피세포에 대해 화학주성 물질로 작용하고, 세포분열을 시킬 수 있으며, 내피세포가 세포외 기질로 자라나기 위한 단백질 분해효소의 생산을 유도하는 역할을 한다고 알려졌다. 그외에도 transforming growth factor- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), transforming growth factor- $\beta$ (TGF- $\beta$ ), epidermal growth factor(EGF), platelet-derived growth factor(PDGF), vascular endothelial growth factor(VEGF) 등의 성장인자들이 있다<sup>8-13)</sup>.

신생혈관형성은 종양의 성장 뿐만 아니라 전이의 과정에도 중요한 역할을 하는 것으로 국내의 연구에서 보고되고 있는데 새로 증식된 혈관은 분절된 기저막을 가지고 있어 성숙 혈관에 비해 좀 더 종양세포가 침입하기 쉽고, 더구나 신생혈관의 내피세포에서 분비되는 단백질 분해효소로 인해 종양세포가 신생혈관으로 들어가기가 더 용이해진다. 또한 전이 장소에서 종양세포가 자리잡고 증식하기 위해서 신생혈관형성이 필요한데 원발성 종양이 신생혈관형성을 잘 할수록 전이 부위에서 더 증식을 잘 할 수 있다고 한다<sup>14)</sup>. 따라서 어떤 종양의 혈관증식 정도를 객관적으로 측정할 수 있으면 그 종양의 생물학적 성상 및 전이 가능성을 예측할 수 있다. 더 나아가 이런 신생혈관의 증식을 억제하면 종양의 증식과 전이를 억제할 수 있어 종양의 치료에 이용이 가능하다<sup>15)</sup>.

종양내 신생혈관의 변화가 종양의 성장과 전이와 밀접한 상관관계가 있다는 사실은 인체에서 발생한 악성 흑색종, 침윤성 유방암종, 전립성암, 자궁 경부암, 두경부 편평상피세포암종 및 실험적으로 유도된 간암 등의 국내의 연구에서 보고되어 있다<sup>14,16,17,21)</sup>. 그러나, 폐에 발생하는 암종 중 국내에서 비교적 흔한 편평상피세포암종에서는 신생혈관변화에 대한 연구가 미미한 실정이다<sup>6)</sup>.

본 연구에서는 폐의 편평상피암종을 대상으로 종양내 신생혈관의 증식 정도를 단위 면적당 미세혈관수와 혈관내피세포의 증식 정도를 측정하고, 기존의 예후인자, 종양의 크기, 림프절 전이 유무 및 암억제 유전자 산물인 p53 유전자의 발현율 등과의 상관관계를 분석하여 신생혈관의 증식 정도가 폐의 편평상피세포암종에서 예후인자로서 유용한지를 평가하고 이를 이용한 암의 치료 가능성을 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1) 재 료

1991년 3월부터 1994년 12월까지 연세대 의과대학 부속 신촌세브란스병원에서 수술후 절제된 폐의 편평상피세포암종으로 진단된 예들 중에서 조직의 고정과 보관 상태를 고려하여 파라핀 블록을 선택하고 이에 해당하는 유리 슬라이드를 광학현미경으로 재검토하여 종양 주위에 심한 염증과 섬유화 등으로 신생혈관형성

평가에 영향을 미치는 예들은 연구 대상에서 제외시키고 최종적으로 54예를 선택하였다. 그 다음 선택된 각 예에 해당하는 환자의 예후와 관련되는 병력 및 임상 소견을 임상 기록지를 통해 검토하고, 병리 보고서를 재검토하여 종양의 크기와 림프절 전이 유무를 확인하였다. 종양의 크기는 육안적 검사로 장경을 측정하고 TNM system에 따라 3 cm을 기준으로 구분하였고, 림프절 전이 유무는 병리 보고서와 임상 병기를 참조하여 림프절 비전이군과 전이군으로 구분하였다.

## 2) 방법

(1) 미세혈관수 계산: 10% 중성 포르말린에 고정하고 통상적으로 파라핀에 포매된 조직을 4  $\mu$ m 두께의 절편을 만들고 슬라이드에 부착시켜 56°C 보온기에서 30분간 처리하고, xylene으로 3~5분간 탈파라핀한 후 100%, 95% 및 75% 알코올로 처리한 후 증류수로 함수시켰다.

면역조직화학 염색은 labelled streptavidin biotin kit (DAKO사, LSAB Kit)을 이용하여 시행하고, 일차 항체는 DAKO사 제품의 factor VIII관련 항원 항체를 1:100으로 희석하여 사용하였다. 함수시킨 절편을 microwave oven에서 2분간 처리한 후, 0.1% pepsin용액으로 실온에서 5분간 반응하고 Tris buffer로 수세한 후 3% 과산화수소수로 30분간 내인성 peroxidase를 억제시킨 다음 Tris완충액으로 10분간 수세후 정상 혈청을 가하고 2시간 동안 반응시켰다. 희석된 일차 항체를 가하고 실온에서 2시간 반응시킨 뒤 Tris 완충액으로 수세하였다. 그후 Biotin과 결합된 항체(biotinylated link antibody)를 가하고 20분간 반응시켰다. Tris 완충액으로 수세한 후 peroxidase conjugated streptavidin 복합체를 가하고 15분간 반응시킨 뒤 Tris 완충액으로 수세후 diaminobenzidine substrate(DAB)와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 작용시켜 양성 세포가 진한 갈색으로 염색될 때까지 발색시킨 다음 hematoxylin으로 10분간 대조 염색하고 봉입하였다. 결과 판정은 양성으로 염색된 모세혈관, 세정맥 및 세동맥을 미세혈관으로 간주하고 광학현미경하에서 밀집도(density)를 임의로 grade 1에서 grade 4로 구분하였다. 또한 광학현미경 200배율 하에서 단위 면적당 미세 혈관수가 가장 활발한 5개 시야를 선택하여 혈관수를 계산하고 평균값을 산출하

여 그 값을 대표값으로 사용하였다.

(2) p53에 대한 면역조직화학 염색과 염색반응의 결과 판정: 10% 중성 포르말린에 고정한 후 통상적으로 파라핀에 포매된 조직을 4  $\mu$ m 두께의 절편을 만들고 슬라이드에 부착시켜 56°C 보온기에서 30분간 처리하고, xylene으로 3~5분간 탈파라핀한 후 100%, 95%, 및 75% 알코올로 처리한 후 증류수로 함수시켰다.

p53에 대한 일차 항체는 쥐에서 만들어진 단클론성 항체(clone D07, Signet, USA)로써 야생형과 돌연변이형 모두 반응할 수 있는 항체로 각각 1:50으로 희석하여 사용하였고, 이차 항체 및 결합 항체는 Dako사의 labelled streptavidin biotin kit를 사용하여 DAB로 발색하였다. 파라핀 절편을 슬라이드에 부착시켜 56°C 부탄기에 처리하고 탈파라핀 및 함수 과정을 시행하였다. Citrate buffer에 슬라이드를 넣고 microwave oven에서 3분간 3회 끓인 후 0.05% saponin용액으로 상온에서 30분간 전처리하였다. 3% hydrogen peroxide로 30~40분간 내인성 과산화효소의 활성을 억제시킨 다음 0.05M Tris buffer (pH 7.6)로 세척하고 정상 혈청으로 2시간동안 비특이적 결합반응을 억제시켰다. 일차 항체를 가하고 -4°C에서 24시간 반응시켰다. Biotin과 결합된 이차 항체에 20분간 반응시키고 세척한 후 streptavidin-horseradish peroxidase용액을 가하고 15분간 반응시켰다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 함유한 DAB용액에서 2~20분간 발색하고, Harris hematoxylin으로 15초간 대조 염색하고 탈수 후 봉입하였다.

염색반응의 결과 판정은 각 예마다 염색이 가장 강하게 반응한 부위를 선택해서 광학현미경 200배율의 10개 시야에서 2000개의 종양 세포핵 중 양성으로 염색된 종양세포의 백분율을 산출하였다

(3) 통계학적 분석: SAS 통계 프로그램을 이용하여 림프절 전이 유무에 따른 신생혈관증식 정도와 종양의 p53 유전자의 발현율에 차이가 있는지를 t-test로 검정하고, 종양의 신생혈관증식 정도를 종양의 크기, 림프절 전이 유무 및 임상적 병기, 종양의 p53 유전자의 발현율 등 각각의 예후인자와의 상관 분석을 하여 상관계수를 구하고, 또한 회귀분석을 하여 일차 회귀 방정식을 구하였다.

## 결 과

폐의 편평상피세포암중에서 신생혈관형성의 정도를 알기 위해서 항 factor VIII 관련 단백질 항체를 이용한 면역조직화학 염색에서 진한 갈색으로 염색된 내피 세포를 가진 미세혈관들이 종양내에서 관찰되었는데, 광학현미경 200배율하에서 평균 적게는 8개에서 58개 까지, 종양의 중앙부보다는 주변부로 갈수록 다수 관찰되었다. p53 유전자의 표현의 정도를 알기 위한 항 p53 단백질에 대한 면역조직화학 염색 결과는 종례마다 심한 차이를 보여서 54예 중 18예에서 거의 염색이 되지 않았고, 양성으로 염색된 세포의 백분율이 25% 이하인 경우가 2예였고, 25%에서 50%에 해당하는

경우가 3예 관찰되었다. 전체 54예 중 31예는 종양세포 핵의 50% 이상이 항 p53 단백질 항체에 진한 갈색으로 염색되었다. 전체 폐의 편평상피세포암중 환자의 p53 유전자의 발현율의 범위는 종례에 따라 전혀 염색이 안되었거나 많게는 거의 100%의 종양세포가 강한 양성 반응을 보였으며, 평균  $50.81 \pm 41.1\%$ 이었다 (Fig. 1).

### 1) 임상 병기 및 림프절 전이 유무에 따른 신생혈관증식의 차이

폐의 편평상피세포암중의 임상 병기에 따른 신생혈관증식의 차이는 stage I이  $17.6 \pm 7.7$ , stage II가  $21.5 \pm 8.0$ , stage IIIa와 stage IIIb가 각각  $24.1 \pm 11.4$  및  $15.0$ 로서 임상 병기가 높을수록 신생혈관증식

Fig. 1. Angiogenesis and p53 expression in squamous cell carcinoma of the lung. A: There is low microvessel density in tumor with no lymph node metastasis. B: There is increased microvessel density in tumor with lymph node metastasis. C: No lymph node metastasis group, Tumor cells show moderately increased p53 expression rate. D: Lymph node metastasis group, Tumor cells show highly increased p53 expression rate. (ABC stain, A,B,C:  $\times 200$ , D:  $\times 100$ ).

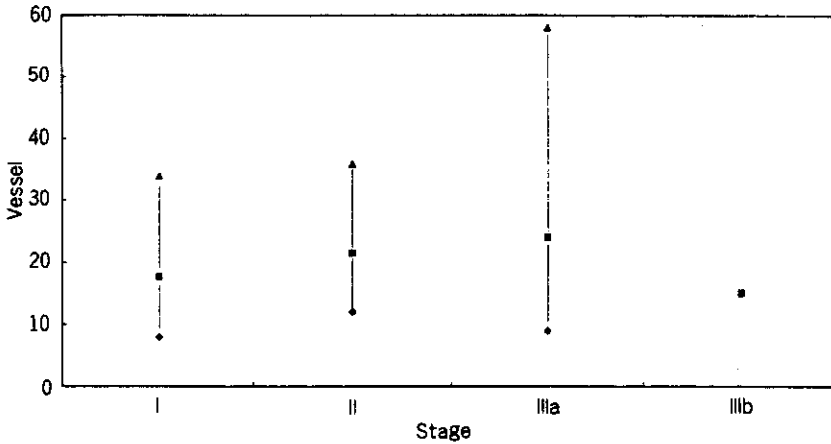


Fig. 2. Microvessel density according to the clinical stage of squamous cell carcinoma of the lung.

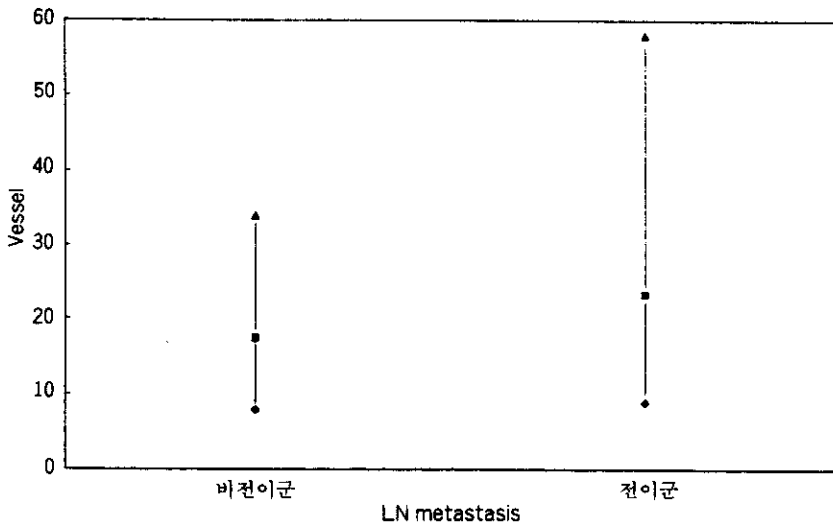


Fig. 3. Microvessel density according to presence or absence of lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the lung.

이 높았다. 또한 신생혈관증식은 림프절 전이가 없는 비전이군 17예와 림프절 전이가 있는 전이군 37예를 비교 분석하면, 림프절 전이군에서는 미세혈관수가 평균  $23.7 \pm 10.2$ 로 림프절 비전이군  $16.9 \pm 7.2$ 에 비해 많은 신생혈관증식을 보였으며 이는 통계학적으로 의의가 있었다(t test,  $p=0.008$ ) (Fig. 2, 3).

## 2) 임상 병기 및 림프절 전이 유무에 따른 p53 유전자 발현율의 차이

편평상피세포암종의 임상 병기에 따른 p53 유전자 발현율은 stage I이  $45.7 \pm 38.4$ , stage II가  $59.0 \pm 38.4$ , stage IIIa와 stage IIIb가 각각  $48.7 \pm 45.7$  및  $49.0$ 이었다. 한편, 림프절 전이 유무에 따른 p53 유전자 발현율은 전이군과 비전이군에서 각각 평균  $49.4$

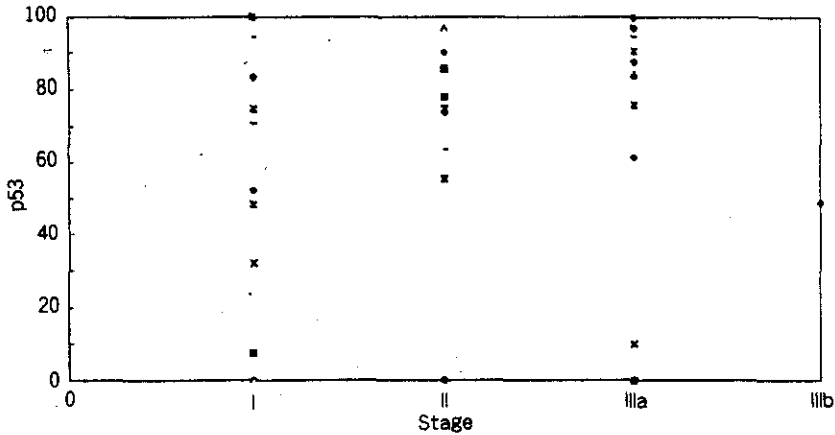


Fig. 4. p53 expression rates according to the clinical stage of squamous cell carcinoma of the lung.

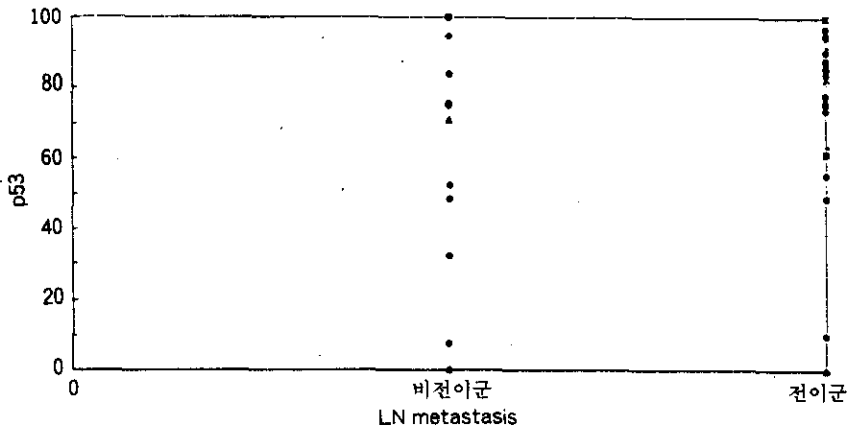


Fig. 5. p53 expression rates according to presence or absence of lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the lung.

$\pm 41.0\%$ 과  $51.46 \pm 41.6\%$ 로 별다른 차이를 보이지 않으며 통계학적으로 의의가 없었다(t test,  $p=0.86$ ) (Fig. 4, 5).

### 3) 신생혈관증식과 p53유전자 발현율의 상관관계

폐의 편평상피세포암종에서 증례마다 신생혈관증식과 p53 유전자의 발현율은 scatter diagram에서 보는 것처럼 연관성이 없고, 통계학적으로 상관 분석한 결과 상관 계수가 0.0048로 상관관계가 희박한 것으로 나타났다(Fig. 6).

## 고 찰

본 연구에서는 폐암<sup>18-20)</sup>의 가장 흔한 조직학적 유형인 편평상피세포암종에서 임상 병기와 림프절 전이 유무에 따른 종양의 신생혈관형성의 변화가 어떠한지 알아보고, 신생혈관형성과 종양억제유전자의 상관관계를 살펴봄으로써 종양억제유전자의 기능을 좀 더 명확히 이해할 수 있고 폐암에서 신생혈관형성의 정도가 예후 추정 인자로서의 유용성과 치료에 도움을 얻고자 본

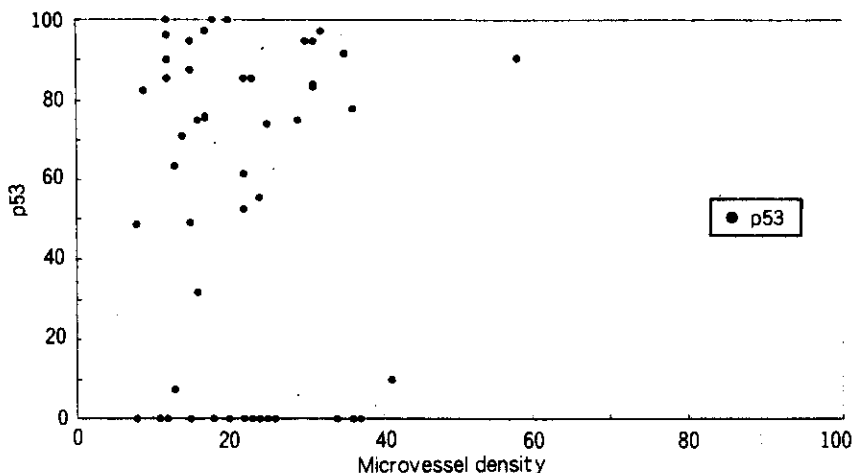


Fig. 6. Scatter diagram shows p53 expression rate versus angiogenesis of squamous cell carcinoma of the lung.

연구를 시행하였다.

신생혈관은 분절된 기저막을 가지고 있고 신생혈관의 내피세포에서 단백질 분해효소를 분비하기 때문에 종양세포가 성숙 혈관보다 침입하기가 쉽고, 종양이 전이한 후에도 종양세포가 자리잡고 증식하기 위해서는 신생혈관생성이 필요한 것으로 알려져 있다. 최근의 여러 실험에서 원발성 종양이 신생혈관형성을 잘 할수록 전이 부위에서 더 증식을 잘 할 수 있고, 악성 종양의 림프절 전이가 더 잘 생긴다고 보고되어 있다<sup>(4, 21, 22)</sup>.

신생혈관형성의 연구 방법으로 1970년대 Folkman 등이 고안한 토끼 각막 micropocket, 지속적으로 종양 추출물을 분비할 수 있는 polymer implant, 계태자의 음모요막을 이용하는 방법, 클론된 미세혈관의 내피세포들을 이용하는 방법 등이 개발되었다<sup>(23)</sup>. 하지만, 종양 조직내에서 비교적 쉽게 신생혈관형성의 정도를 측정하는 방법으로는 본 연구에서 사용한 factor VIII관련 항원을 이용한 면역조직화학 염색을 통해 미세혈관 수를 정량적으로 측정하거나 신생혈관형성 촉진 물질들에 대한 면역조직화학 염색이나 in situ hybridization으로 간접 측정하는 방법이 있다.

p53유전자는 17번 염색체의 단완에 위치하며 핵의 DNA에 결합하여 전사 인자(transcription factor)로 작용하는 핵의 인단백질(nuclear phosphopro-

tein)을 coding하는 것으로 알려져 있다. p53의 중요한 기능의 하나가 세포의 증식과 분화를 조절하는 세포 주기의 check point로 작용하는데, 현재까지 인체내 종양에서 가장 흔히 발견되는 유전적 변화가 이 유전자의 염기 배열의 변화 즉, missense mutation 이나 deletion이다. 이러한 돌연변이가 p53 단백질의 DNA 결합과 전사 조절 활성도(transcriptional regulatory activity)의 소실을 초래한다. 이 p53유전자 돌연변이의 산물은 비정상적인 구조(abnormal conformation)를 가진 단백질이고, 반감기가 길어져서 면역조직화학 염색으로 확인할 수 있다. 그러나 p53 유전자나 유전자 산물이 복잡한 특성을 지니고 있어 임상적으로 단순하게 해석할 수는 없다고 한다. 그럼에도 불구하고 종양에서 p53의 분석은 발암 과정을 이해하는데 도움이 된다고 한다<sup>(24-25)</sup>.

본 연구 결과, 폐의 편평상피세포암종에서 임상적 병기에 따른 신생혈관형성은 임상 병기가 높을수록 높았고, 림프절 전이가 있는 군에서 림프절 비전이군에 비해 원발성 종양의 신생혈관형성이 통계학적으로 유의 있게 높았다. 그러나 각 종양의 신생혈관정도는 넓은 범위에 걸쳐 분산되었다. 항 factor VIII관련항체를 이용한 면역조직화학 염색에서 대부분의 종양은 한 종양내에서 부위에 따라 다양한 밀도의 미세혈관수를 보여 주었고, 특히 종양의 주변부에 신생혈관

형성이 많았다. 염증반응 부위에도 혈관형성이 많았으나 이는 염증에 의한 이차적 결과로 인한 것이므로 미세혈관으로 간주하지 않았다.

본 연구에서 폐의 편평상피세포암종에서 임상적 병기가 높을수록, 림프절 전이가 있는 군에서 림프절 비전이군에 비해 신생혈관형성이 활발하였다. 이런 결과는 악성 흑색종, 침윤성 유방암종, 전립선암, 자궁 경부암, 두경부 편평상피세포암 및 실험적으로 유도된 간암에서와 같이 다른 장기에서의 국내외 연구 결과와 일치하는 소견이었다<sup>14, 16, 17, 21</sup>). 따라서 폐암에서도 신생혈관형성은 종양이 성장하고 국소 림프절로 전이함에 따라 더 활발하게 형성되는 것을 알 수 있었고, 본 실험 결과는 종양에서 이미 알려진 신생혈관의 기능과 형성 기전에 일치되는 소견이었다.

폐의 편평상피세포암종에서 임상 병기와 림프절 전이 유무에 따른 p53 유전자 발현율은 통계학적으로 별다른 차이가 없었다. 외국의 많은 연구 결과에 의하면 p53의 돌연변이는 성별 차이나 임상 병기와는 무관하고 오히려 흡연 습관이나 젊은 연령, 폐암의 여러 조직학적 유형 중 편평상피세포암과 관계가 있다고 하며<sup>32~34</sup>), Horio 등의 연구에 의하면 p53의 돌연변이는 병리학적 병기나 조직학적 유형과는 관계없이 환자의 낮은 생존율과 상관관계가 있다고 한다<sup>35</sup>). 이러한 연구 결과들과 비교해 보면, 본 연구에서 임상 병기나 림프절 전이 유무에 따른 p53 유전자 발현율의 차이가 없다는 사실과 일치한다고 할 수 있다. 그러나 p53 면역조직화학 염색은 축적된 p53 단백질만을 확인할 수 있으므로 p53 mRNA의 완전한 소실이나 야생형(wild type)의 p53 단백질, 그리고 축적되지 않은 돌연변이형 p53 단백질의 존재 유무를 확인할 수 없으므로 검사 자체의 한계성이 있다고 한다<sup>36~39</sup>).

본 연구에서는 신생혈관증식과 p53 유전자 발현율을 비교 분석한 결과 통계학적으로 상관관계가 희박한 것으로 나타났다. 신생혈관형성은 단순히 신생혈관형성 촉진물질 및 신생혈관형성에 필요한 각종 인자를 분비하는 내피세포의 유입 및 이동에 의해서만 유발되는 것이 아니라, 동시에 생체내에 정상적으로 존재하는 내피세포의 활성을 억제하는 역할을 하는 thrombospondin의 억제가 수반되어야 한다<sup>40, 41</sup>). Bouck 등은 이런 신생혈관형성과 내피세포의 분열을 억제하는 thrombospondin이 암억제 유전자인 p53에 의해 조

절된다고 하였다<sup>42</sup>). 그들의 실험에 의하면 암종이 발생하기 쉬운 Li-Fraumeni 증후군 환자의 섬유모세포를 배양하면, 이 섬유모세포에는 야생형의 p53 대립 유전자 하나만을 가지고 있어서 thrombospondin도 정상적으로 분비되고 신생혈관이나 종양이 형성되지 않지만, 계속 계대배양하게 되면, 야생형 p53의 나머지 대립유전자도 소실되어서 thrombospondin의 생성도 감소되고 따라서 신생혈관이 촉진되어 종양이 발생되었다고 한다<sup>43</sup>). 본 연구에서는 직접적으로 p53과 thrombospondin을 비교하지는 못했지만 간접적으로 미세혈관 수와 돌연변이형 p53 유전자의 발현율을 상관 분석하였다. 본 연구 결과처럼 신생혈관형성과 암억제유전자인 p53의 발현율이 관련이 없는 것으로 보아 p53이 신생혈관형성에 직접 관여하지 않는 것으로 생각되나, 신생혈관형성과 암억제유전자의 관계를 좀 더 정확히 이해하려면 앞서 언급한 p53과 thrombospondin을 직접 비교를 하든지 분자 생물학적 기법을 이용하여 p53의 돌연변이를 정확히 측정하는 방법 등 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## 결 론

폐에 발생한 편평상피세포암종 54예를 대상으로 factor VIII 관련 항원과 p53 단백질에 대한 면역조직화학 염색을 통해, 종양내의 신생혈관의 증식 정도와 기존의 예후 인자인 종양의 크기, 림프절 전이 유무와의 상관 관계를 분석하고, 또한 암억제 유전자인 p53의 발현율과의 상관 관계를 분석하여 신생혈관의 증식 정도가 폐의 편평상피세포암종에서 예후인자로서의 가치가 있는지를 평가하고 더 나아가 이를 이용한 폐암의 치료 가능성을 알아 보고, 또한 신생혈관형성에 대한 암억제 유전자의 역할을 알아보고자 연구를 시도하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 폐의 편평상피세포암종에서 림프절 전이군과 임상 병기가 높을수록 신생혈관증식이 많았다.

2) p53 유전자 발현율은 임상 병기와 림프절 전이 유무에 따른 유의있는 차이를 보이지 않았다.

3) 폐의 편평상피세포암종에서 신생혈관증식과 p53 유전자 발현율은 상관 관계가 희박했다.

이상의 결과로 보아 폐의 편평상피세포암종에서 신생혈관의 증식 정도는 종양의 성장과 전이에 중요한



역할을 하며 조직 검사시 반드시 평가해야 할 하나의 예후인자로서 유용하다고 생각되며 더 나아가 이런 신생혈관증식 억제제 폐의 편평상피세포암종에 대한 치료 방법의 하나가 될 수 있음을 시사한다. 또한 돌연변이형 p53 유전자의 발현율은 기존의 다른 예후 인자와 독립적인 요소로 생각된다.

### 참 고 문 헌

- 1) Folkman J: *How is blood vessel growth regulated in normal and neoplastic tissue?* G.H.A. Clowes memorial award lecture. *Cancer Res* **46**: 467, 1986
- 2) Folkman J, Shing Y: *Minireview, Angiogenesis.* *J Biol Chem* **267**: 10931, 1992
- 3) Thompson WD, Shiack KJ, Fraser RA, McIntosh LC, Simpson JG: *Tumors acquire their vasculature by vessel incorporation, not vessel ingrowth.* *J Pathol* **151**: 323, 1987
- 4) Folkman J: *What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent?* *J Natl Cancer Inst* **82**: 4, 1990
- 5) Folkman J: *Tumor angiogenesis.* In Holland, J. F., *Cancer Medicine.* 3rd edit. Philadelphia: Lea & Febiger: 1993
- 6) Macchiarini P: *Relation of neovascularization to metastasis of non-small cell lung cancer.* *Lancet* **340**: 145, 1992
- 7) Horak ER: *Angiogenesis assessed by platelet/endothelial adhesion molecule antibodies, as indicator of node metastases and survival in breast cancer.* *Lancet* **340**: 1120, 1992
- 8) Folkman J, Klagsbrun M: *Angiogenic factors.* *Science* **235**: 442, 1987
- 9) Folkman J, Klagsbrun M, Sasse J, Wadzinski M, Ingber D, Vlodavsky I: *A heparin-binding angiogenic protein-basic fibroblast growth factor is stored within basement membrane.* *Am J Pathol* **130**: 393, 1988
- 10) Folkman J, Klagsbrun M, Sasse J, Wadzinski M, Ingber D, Vlodavsky I: *A heparin-binding angiogenic protein-basic fibroblast growth factor is stored within basement membrane.* *Am J Pathol* **130**: 393, 1988
- 11) Folkman J, Shing Y: *Minireview: Angiogenesis.* *J Biol Chem* **267**: 10931, 1992
- 12) Pierce GF, Tarpley JE, Yamagihara D, Mustoe TA, Fox GM, Thomason A: *Platelet derived growth factor(BB heomodimer), transforming growth factor- $\beta$ , and basic fibroblast growth factor in dermal wound healing: Neovessel and matrix formation and cessation of repair.* *Am J Pathol* **140**: 1375, 1992
- 13) Merrilees MJ, Sodek J: *Synthesis of TGF- $\beta$  by vascular endothelial cells is correlated with cell spreading.* *J Vasc Res* **29**: 376, 1992
- 14) Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J: *Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma.* *N Engl J Med* **324**: 1, 1991
- 15) Denekamp J: *Angiogenesis, neovascular proliferation and vascular pathophysiology as target for cancer therapy.* *Br J Radiol* **66**: 181, 1993
- 16) Srivastava A, Laidler P, Davies RP, Horgan LE: *The prognostic significance of tumor vascularity in intermediate-thickness(0.76~4.0 cm thick) skin melanoma: A quantitative histologic study.* *Am J Pathol* **133**: 419, 1988
- 17) Herlyn M, Clark WH, Rodeck V, Mancianti ML, Jambrosic J, Koprowski H: *Biology of tumor progression in human melanocytes.* *Lab Invest* **56**: 461, 1987
- 18) Capewell S, Sudlow MF: *Performance and prognosis in patients with lung cancer.* *Thorax* **45**: 951, 1974
- 19) Carr DT, Mountain CF: *The staging of lung cancer.* *Semin Oncol* **1**: 229, 1974
- 20) Carter D, Eggleston JC: *Tumors of the lower respiratory tract.* *Atlas of Tumor Pathology.* Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1980
- 21) 김영배, 황태숙: 침윤성 유방암종에서 미세혈관의 변화와 림프절 전이와의 상관관계. *대한암학회지* **25**: 920, 1993
- 22) Weider N, Carroll PR, Flax J, Blumenfeld W, Folkman J: *Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma.* *Am J of Pathology* **143**: 401, 1993
- 23) Folkman J: *Tumor angiogenesis.* *Advances in Cancer Research* **43**: 175, 1985
- 24) Chang F, Syrjanen S, Tervahauta a, Syrjanen K: *Tumorigenesis associated with the p53 tumor suppressor gene.* *Br J Cancer* **68**: 653, 1993

- 25) Lane DP: *On the expression of the p53 protein in human cancer. Mol Biol Rep* **19**: 23, 1994
- 26) Levine AJ: *The p53 tumor suppressor gene and product. Cancer Surv* **12**: 59, 1992
- 27) Montenarh M: *Biochemical, immunological, and functional aspects of the growth-suppressor/oncoprotein p53. Crit Rev Oncogenesis* **3**: 233, 1992
- 28) Sturzbecher H-W, Deppert: *The tumor suppressor protein p53, Relationship of structure to function(Review). Oncol Rep* **1**: 301, 1994
- 29) Vogelstein B, Kinzler KW: *p53 function and dysfunction. Cell* **70**: 523, 1992
- 30) Vile RG: *p53, a gene for all tumors? Provides profound insights into the basic molecular mechanisms of cancer. Br Med J* **307**: 1226, 1993
- 31) Lane DP: *The regulation of p53 function, Steiner Aware Lecture. Int J Cancer* **57**: 623, 1994
- 32) Chiba I, Takahashi T, Nau MM: *Mutations in the p53 gene are frequent in primary, resected non-small-cell lung cancer. Oncogene* **5**: 1603, 1990
- 33) Lee JS, Yoon A, Kalapurakal S: *Expression of p53 in non-small cell lung cancer, a favorable prognostic factor? Am Assoc Cancer Res* **35**: 237, 1994
- 34) Johnson BE, Kelley MJ: *Overview of genetic and molecular events in the pathogenesis of lung cancer. Chest* **103(Suppl)**: 1, 1993
- 35) Horio Y, Takahashi T, Kuroishi T: *Prognostic significance of p53 mutations and 3p deletions in primary resected non-small cell lung cancer. Cancer Res* **53**: 1, 1993
- 36) Macgeoch C, Barnes DM, Newton JA: *p53 protein detected by immunohistochemical staining is not always mutant. Dis Markers* **11**: 239, 1993
- 37) Hall PA, Lane DP: *p53 in tumor pathology, Can we trust immunohistochemistry?-Revisited. J Pathol* **172**: 1, 1994
- 38) Wynford-Thomas D: *p53 in tumor pathology, can we trust immunohistochemistry? J Pathol* **166**: 329, 1992
- 39) Battifora H: *p53 immunohistochemistry, a word of caution. Hum Pathol* **25**: 435, 1994
- 40) Rastinejad F, Polverini P, Bouck NP: *Regulation of the activity of a new inhibitor of angiogenesis by a cancer suppressor gene. Cell* **56**: 345, 1989
- 41) Bouck NP: *Tumor angiogenesis, The role of oncogenes and tumor suppressor genes. Cancer Cells* **2**: 179, 1990
- 42) Bouck NP, Dameron KM, Volpert OV: *Tumor suppressor gene control of thrombospondin and angiogenesis. Presented at the Banbury Conference on Mechanisms of Developmental and Tumor Angiogenesis, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, November 11, 1993*
- 43) Bischoff FZ, Yim SO, Pathak S: *Spontaneous abnormalities in normal fibroblasts from patients with Li-Fraumeni syndrome, Aneuploidy and immortalization. Cancer Res* **50**: 7979, 1990