

설암의 술전 조직표본에서 악성도와 혈관내피세포성장인자 발현과의 상관관계

변준호 · 박봉욱 · 정인교* · 김종렬* · 김육규* · 박봉수** · 김규천**
경상대학교 의과대학 치과학교실, *부산대학교 치과대학 구강악안면외과학교실,
**부산대학교 치과대학 구강해부학교실

Abstract

CORRELATION BETWEEN VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR EXPRESSION AND MALIGNANCY GRADING IN BIOPSY SPECIMENS OF TONGUE CANCERS

June-Ho Byun, Bong-Wook Park, In-Kyo Chung*, Jong-Ryoul Kim*,
Uk-Kyu Kim*, Bong-Soo Park**, Gyoo-Cheon Kim**

Department of Dentistry, College of Medicine, Gyeongsang National University

**Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Pusan National University*

***Department of Oral Anatomy, College of Dentistry, Pusan National University*

Angiogenesis is important for the growth and metastasis of solid tumors. Some growth factors, inflammatory cytokines, and angiogenin are known to promote tumor angiogenesis. Among them, Vascular endothelial growth factor (VEGF) is the most intriguing factor in regard to tumor angiogenesis. Inhibition of VEGF activity by neutralizing antibodies or by the introduction of dominant negative VEGF receptors into endothelial cells of tumor-associated blood vessels resulted in the inhibition of tumor growth and in tumor regression, indicating that VEGF is a major initiator of tumor angiogenesis. VEGF promotes angiogenesis through their receptors, Flt-1 and Flk-1/KDR, on vascular endothelial cells. These two receptors were usually believed to be expressed specifically on vascular endothelial cell. Several reports have now shown that VEGF is not only significantly associated with microvessel density but also has prognostic value in both node-negative and node-positive oral squamous cell carcinoma.

For many years several histologic features of the neoplasms are being considered when assessing the influence of malignancy grading on recurrence and prognosis. Among the characteristics investigated, degree of keratinization, nuclear pleomorphism, mode of invasion, microscopic depth of invasion, intravascular invasion, lymphocyte infiltration, and number of mitoses have been considered as important prognostic factors. So, this study was conducted to evaluate the correlation of vascular endothelial growth factor expression with malignancy in paraffin-embedded biopsy specimens from 11 patients with tongue cancers. Our results showed that high immunoreactivity specimens of VEGF expression were significantly lower keratinization degree and more pronounced nuclear pleomorphism than in low immunoreactivity specimens. Thus, VEGF expression could be used as a prognostic marker in tongue cancer.

Key words : Vascular endothelial growth factor (VEGF), Keratinization, Nuclear pleomorphism, Number of mitoses

I. 서 론

구강악안면영역 악성종양의 진단 및 치료에 있어서 최근 분자학적 접근법을 포함하여 다양한 연구가 진행되고 있고

또한 많은 발전이 이루어지고 있으나 예후 및 생존율과 관련하여 큰 변화가 없는 것이 사실이다. 그 예후나 생존율에 대한 추정도 림프절 전이 관련성 등을 포함하여 TNM 분류에 의존하는 경우가 많은 관계로 때로는 적절한 신뢰도를

나타내지 못하고 있다. 이에 효과적인 치료전략을 수립하기 위하여 여러 조직병리학적 특성들이 연구되고 있으며 이중 각화도, 핵 다형성 양상, 침습 양상, 침윤깊이 및 혈관 침범 등이 종양의 예후와 밀접한 관련이 있는 악성도를 나타내는 주요 생물학적 표지자 (biologic marker)로 평가받고 있다^{1,2)}. 또한 이와 더불어 의미있는 예측결과를 나타내는 각종 종양표지자 (tumor marker)에 대한 연구가 계속적으로 진행되고 있으며 이중 최근에 각광을 받고 있는 것이 혈관 신생인자들이다. 혈관신생이란 기존에 존재하는 혈관망에서 새로운 혈관이 형성되는 것으로, 성장하며 주위의 정상적인 구조물에 침습할 수 있고 혈관이나 림프관을 통하여 신체의 먼 기관으로 전이 할 수 있는 능력을 가진 종양세포는 그 성장과 전이에 새로운 혈관형성이 필수적이다. 염기섬유모세포성장인자 (basic fibroblast growth factor), 혈소판유래성장인자 (platelet-derived growth factor) 등을 포함하여 여러 가지 혈관신생인자들이 혈관신생을 유도하는 것으로 알려져 있으나 이들은 다양한 세포들에 분열촉진인자로 역할을 하는 반면, 혈관내피세포성장인자 (vascular endothelial growth factor, VEGF)는 혈관내피세포에 특이적으로 반응하여 혈관의 증식과 이주를 촉진시키는 것으로, 가장 강력한 혈관신생인자중의 하나로 알려져 있다. 고형성 종양 (solid tumor)에서 이와 같은 혈관신생인자들이 중요한 이유는 새로운 혈관형성이 없을 경우 종양조직은 저산소상태로 인하여 2 mm³ 이상도 성장할 수 없기 때문이다^{3,4)}. 상처의 치유 등에서 나타나는 정상적인 생리학적 과정에서 혈관의 형성은 혈관형성인자와 항혈관형성인자의 적절한 균형에 의하여 고도로 조절되지만 종양 등에서는 조절되지 않는 비정상적인 혈관 형성이 일어나게 된다. 악성 종양에서 나타나는 이러한 혈관의 신생과 증식이 이의 전이와 깊은 관련이 있다고 알려져 있으며 Homer 등⁵⁾은 두경부종양에서 이런 미세혈관의 증가가 종양의 재발이나 림프절 전이등과 관련이 있다고 보고하였다.

혈관내피세포성장인자는 family로 구성되어 있으며 일반적인 혈관내피세포성장인자로 알려진 혈관내피세포성장인자-A, 태반성장인자 (placenta growth factor), 혈관내피세포성장인자-B, 혈관내피세포성장인자-C, 혈관내피세포성장인자-D 및 혈관내피세포성장인자-E의 6가지 요소가 지금까지 알려지고 있다.

혈관내피세포성장인자-A라고도 불리우는 혈관내피세포성장인자는 46 kDa의 헤파린 결합형 다기능 이합체 당단백이며 혈관내피세포에 특이적인 유사분열촉진제로 두가지 수용체, 혈관내피세포성장인자 수용체-2 (vascular endothelial growth factor-2, VEGFR-2 or Flk-1/KDR)와 혈관내피세포성장인자 수용체-1 (vascular endothelial growth factor-1, VEGFR-1 or Flt-1)에 결합하여 혈관신생의 성장, 분화, 그리고 성숙 등의 단계를

거쳐 결과적으로 미세혈관밀도의 증가를 가져오게 된다^{6,7)}.

최소한의 침습양상을 보이는 편평상피세포암일지라도 특히 잘 발달된 혈관분포를 가지는 허에 존재할 경우 대부분 근치적 절제술로 치료를 하지만 그 치료 및 예후가 불량하여 국소적인 재발 혹은 원격전이 등으로 생명에 위협을 초래할 수 있다. 따라서 생물학적으로 침습적인 종양을 가진 환자를 구분하고 효과적인 치료전략에 중요한 요소로 작용할 수 있는 종양 표지자에 대한 연구가 계속적으로 진행되고 있는 상황에서 여러 종양관련 문헌에서 중요한 예후인자로 알려지고 있는 혈관내피세포성장인자를 이용하여 본 연구에서는 설암 술전 조직표본의 종양세포에서 각화도, 핵 다형성 및 고배율하 유사분열 수의 분석을 통한 악성도 양상과 혈관내피세포성장인자 발현과의 상관관계를 통하여 혈관내피세포성장인자의 발현이 설암의 어떠한 조직병리학적 악성요소와 관련이 있는지, 그리고 혈관내피세포성장인자의 발현이 설암에서도 악성도의 유효한 표지자로 이용될 수 있는 지를 연구하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

1998년 11월부터 2003년까지 9월까지 조직검사를 통하여 설암으로 진단받은 환자를 대상으로 술전 조직검사표본에서 파라핀 종양 절편을 획득하였다. 모든 환자들은 조직검사시기에 인지할 만한 원격전이는 없었으며 어떠한 환자도 이전에 방사선 치료 등의 치료를 받은 과거력은 없었다.

2. 연구방법

1) 악성도의 평가

구강편평상피세포암에 대한 Anneroth 등¹⁾의 분석방법을 이용하여 임상적 정보가 전혀 없는 2명의 병리학자를 통하여 술전 조직검사 표본에서 다음의 세가지 항목을 조사하였다. 각화도, 핵 다형성, 그리고 고배율하 유사분열 수를 조사하였으며 이들 3개 항목을 400배의 고배율로 관찰하고 이를 4등급으로 점수를 나누어 1등급은 악성도가 가장 낮은 것으로, 4등급은 가장 악성도가 높은 것으로 표현하였다 (Table 1).

각화도는 개개 세포가 각화세포를 나타내고 이러한 세포 군들내의 각화진주 (keratin pearl) 형성정도로 평가하였고 핵 다형성은 종양세포 핵의 수, 크기 및 형태에서의 변이, 증가된 핵-세포질 비율, 그리고 다염색성핵 및 다핵의 존재로 평가하였으며 유사분열 수는 기저세포층 상방에서의 유사분열 수로 평가하였다.

Table 1. Malignancy Grading System of Oral Squamous Cell Carcinoma

Morphologic parameter	Points			
	1	2	3	4
Degree of keratinization	Highly keratinized (>50% of the cells)	Moderately keratinized (20-50% of the cells)	Minimal keratinized (5-20% of the cells)	No keratinization (0-5% of the cells)
Nuclear pleomorphism	Little nuclear polymorphism (>75% of mature cells)	Moderately abundant nuclear polymorphism (50-75% mature cells)	Abundant nuclear polymorphism (25-50% mature cells)	Extreme nuclear polymorphism (0-25% mature cells)
Number of mitoses/HPF*	0-1	2-3	4-5	> 5

*HPF: high power field.

2) 면역조직화학적 검사

통상의 방법으로 제작한 H-E 염색표본에 대한 광학현미경학적 관찰 후, 각 증례에서 보존 상태가 양호한 한개의 파라핀 포매조직을 선택하여 5 μm 두께로 절편을 얻어 혈관내피세포성장인자에 대한 면역염색을 실시하였다. 탈 파라핀한 조직절편을 증류수에 수화시킨 후 내인성 과산화효소를 제거하기 위해 메칠 알콜에 0.3% 과산화수소를 첨가시킨 용액에서 20분간 처리한 다음, 0.01 M 인산염 식염수 (phosphate buffered saline, PBS)에서 10분간 3회 세척하고 5% normal horse serum에서 30분간 두었다. 그 후 조직절편을 세척하지 않고 부드럽게 blotting한 후, 1:400으로 희석된 1차항체인 mouse monoclonal antihuman VEGF (Santa Cruz, CA, USA)를 4°C에서 14시간 내지 16시간 동안 적용하였다. 그리고 나서 PBS로 10분씩 3회 세척한 후 2차 항체인 biotinylated horse anti-mouse IgG (Vector Lab, CA, USA)를 1: 200으로 희석하여 실온에서 1시간 동안 각각 적용하였다. 조직절편을 PBS로 10분씩 3회 수세한 다음, 30분전에 미리 만들어 실온에 방치해 놓은 ABC (avidin-biotin horseradish peroxidase complex) 용액 (A:10 μl, B:10 μl in 1 ml PBS, Vector lab, CA, USA)을 1시간 동안 적용시켰다. 조직절편을 PBS로 10분씩 3회 세척한 후, 0.05 M Tris-HCL buffer (pH 7.6)에 0.05% DAB (diaminobenzine, Sigma, St. Louis, USA)와 0.01% 과산화수소 혼합용액에서, 약 10분동안 실온에서 발색반응을 시켰다. 그 후 tris buffer, PBS 및 증류수에서 각각 10분간 순서대로 세척한 후, Harris hematoxylin으로 대조염색을 하고 통상적인 방법으로 그 이후의 과정을 거쳐 Permount (Polysciences, PA, USA)로 봉입하였다.

3) 면역조직화학적검사의 평가

임상적 정보를 전혀 인지하지 못하는 2명의 병리학자를 통하여 종양세포에서의 혈관내 피세포성장인자의 발현은

염색강도 (staining intensity)를 통하여 평가하였다. 0에서 3까지 4등급으로 나누었으며 0은 인지할 만한 염색강도가 나타나지 않은 경우를, 1은 저발현군, 2는 중발현군으로, 그리고 3은 가장 강한 염색정도를 나타내는 고발현군으로 표기하였다.

4) 통계학적 분석

술전 생검조직에서 악성도 정도와 종양세포에서의 혈관내피세포성장인자 발현과의 상관 관계는 스페어만의 순위상관 (Spearman's rank correlation)을 통하여 분석하였으며 유의수준은 p<0.05로 하였다.

Ⅲ. 연구결과

1. 술전 조직검사표본의 임상적, 조직병리학적 양상 및 혈관내피세포성장인자의 발현정도

조직검사를 통하여 혀의 편평상피세포암으로 진단된 환자의 임상적 양상, 조직표본을 통한 조직병리학적 특성 및 종양세포에서의 혈관내피세포성장인자의 면역반응을 분석하였다(Fig. 1~4, Table 2).

조직표본의 환자들은 5명의 남자와 6명의 여자였고 29세에서부터 71세까지로 평균 연령은 48.1세였으며 조직검사시 궤양성의 내장성 병소를 보였던 종양형태가 8례이고 유두양상의 외장성 병소를 보이는 종양형태가 3례였다. 모든 술전 조직표본의 종양세포에서 혈관 내피세포성장인자가 발현되었으며 3례의 고발현군, 3례의 중발현군, 그리고 5례의 저발현군으로 나타났다. 조직표본들의 각화도는 다양한 정도를 나타내었으나 혈관내피세포성장인자의 발현강도가 높고 궤양성의 내장성 병소를 보였던 표본에서 가장 각화도 양상이 좋지 않았다. 조직표본들에서 핵 다형성도 다양한 양상을 나타내었으며 혈관내피세포성장인자의 발현강도가 높고 내장성 병소를 보였던 표본에서 이의 정도가 심하였

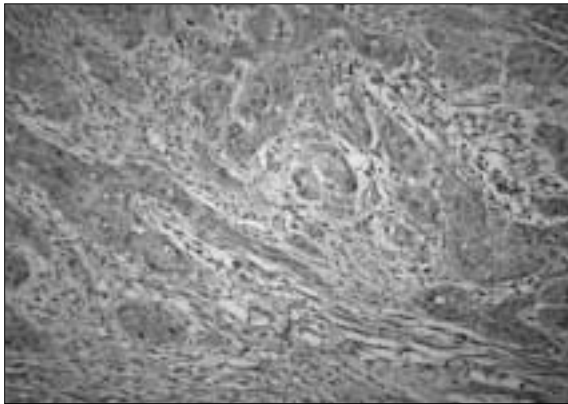


Fig. 1. Representative photomicrograph of moderate staining for vascular endothelial growth factor (VEGF) in tumor cells of tongue cancer (immunohistochemical stain, original magnification × 200).

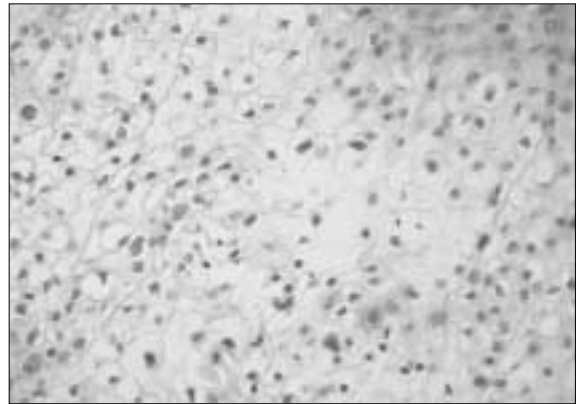


Fig. 2. Representative photomicrograph of grade 4 keratinization in tumor cells of tongue cancer (H-E stain, original magnification × 400).

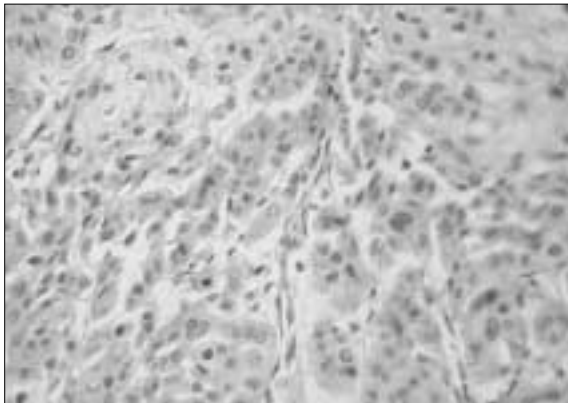


Fig. 3. Representative photomicrograph of grade 4 nuclear pleomorphism in tumor cells of tongue cancer (H-E stain, original magnification × 400).

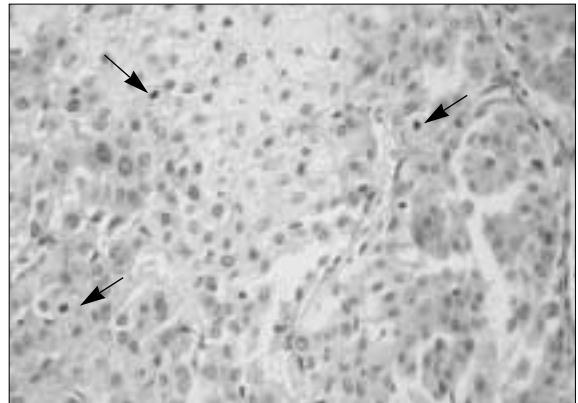


Fig. 4. Representative photomicrograph of grade 2 number of mitoses in tumor cells of tongue cancer (H-E stain, original magnification × 400).

Table 2. Clinicopathologic Features and VEGF Expression in Biopsy Specimens of Tongue Squamous Cell Carcinomas

Specimen number	Age	Gender	Morphology	Keratinization [†]	Nuclear plemorphism [†]	Number of mitises [†]	VEGF intensity
1	46	female	endophytic	1	1	2	low
2	45	male	exophytic	2	2	2	moderate
3	46	male	endophytic	4	3	1	high
4	50	male	endophytic	1	1	1	low
5	71	female	exophytic	1	1	3	low
6	29	female	endophytic	3	2	1	moderate
7	54	female	endophytic	3	4	1	high
8	55	male	exophytic	2	2	2	moderate
9	44	female	endophytic	1	1	1	low
10	43	female	endophytic	1	1	1	low
11	46	male	endophytic	4	3	1	high

[†] Keratinization, nuclear plemorphism, and number of mitoses were graded on a scale of 1 to 4, with 1 representing the least malignant feature and 4 representing the most malignant feature.

VEGF : vascular endothelial growth factor.

Table 3. Correlation of VEGF Expression with Malignancy in Biopsy Specimens

Features [†]	VEGF expression			p-value
	Low	Moderate	High	
Keratinization				< 0.05
1 ~ 2	5	2	0	
3 ~ 4	0	1	3	
Nuclear pleomorphism				< 0.05
1 ~ 2	5	3	0	
3 ~ 4	0	0	3	
Number of mitoses				> 0.05
1 ~ 2	4	3	3	
3 ~ 4	1	0	0	

Data are given as number of specimens.

[†] According to the 4-point rating scale used, score 1 corresponds to the least and score 4 to the most malignant presentation of each feature.

VEGF : vascular endothelial growth factor.

다. 유사분열 수는 혈관내피세포성장인자의 발현이 낮거나 중정도의 표본에서 1 경우를 제외하고는 외장성 병소를 보였던 환자의 표본에서 높게 나타났다.

2. 술전 조직검사표본에서 혈관내피세포성장인자의 발현과 악성도와의 관계

조직표본에서 400배의 고배율로 관찰한 각화도, 핵 다형성, 그리고 고배율하 유사분열 수를 통한 설암의 종양세포 특성과 종양세포에서의 혈관내피세포성장인자 발현정도와 의 상관 관계를 통계학적으로 분석하였다 (Table 3).

스페어만의 순위상관을 통한 검증에서 종양세포에서의 혈관내피세포성장인자 발현이 높을수록 각화도의 악성정도가 유의할 만한 상관관계를 나타내었다 (p<0.05). 또한 핵 다형성도 혈관내피세포성장인자의 발현정도와 의미있는 상관관계를 나타내었다 (p<0.05). 그러나 고배율하 유사분열 수는 혈관내피세포성장인자의 발현정도와 유의성 있는 관계는 없었다 (p=0.3757).

IV. 총괄 및 고찰

정상조직과 유사하게 종양은 종양세포로 이루어진 실질조직과 혈관내피세포, 염증세포 및 섬유모세포 등의 비종양 지지조직으로 이루어진 간질조직으로 구성되어 있으며 산소와 영양소를 제공하는 새로운 혈관의 공급이 없을 경우 저산소상태를 야기하며 2 mm³ 이상도 성장할 수가 없다⁴⁾. 종양 미세환경에서 국소적인 자극요인에 의하여 새로운 혈관이 형성되는 것을 의미하는 종양 혈관신생은 종양자신의 생존, 성장 및 전이에 필수적인 요소로 이에 의한 미세혈관

밀도의 증가는 여러 종양에서 불량한 예후와 관련이 있다고 알려져 있다. 혈관신생인자들의 유리, 금속단백분해효소 (metalloproteinases)의 활성화에 의한 기질의 파괴, 그리고 연이은 재형성으로 주로 구성되는 혈관신생과 관련하여 종양에서는 다양한 혈관신생인자들이 분비되어 혈관신생을 조절하게 되는데 이러한 인자들중 혈관내피세포성장인자 (vascular endothelial growth factor, VEGF)가 종양세포에 작용하여 종양의 성장과 전이에 관여하는 가장 강력한 혈관신생인자중 하나이다³⁾.

혈관내피세포성장인자는 family로 구성되어 있는데, 이중 혈관내피세포성장인자의 주 구성요소이고 혈관투과성에 있어서 히스타민보다 약 5만배 더 강력한 기능을 나타내어 혈관투과인자(vascular permeability factor, VPF)로도 알려져 있는 혈관내피세포성장인자-A가 일반적인 혈관내피세포성장인자로 불리우며 혈관내피세포에 특이적인 유사분열 촉진제로 작용하여, 내피세포의 증식과 이동, 세포의 기질의 재형성 및 신생모세혈관의 형성과 같이 종양의 신생혈관 생성에서 중요한 역할을 한다⁸⁾. 특히 빠른 성장이 특징인 종양이라는 환경에서 나타나는 저산소상태가 혈관내피세포성장인자 전령 리보핵산 (mRNA)의 전사 및 안정의 가역적인 증가를 가져와 종양내에서 이의 발현의 증가가 나타나게 된다. 종양의 크기가 증가함에 따라 가장 가까이 있는 혈관사이 거리의 증가로 팽창하는 종양내의 세포들은 산소가 부족하게 되고 이에 종양내 저산소 지역이 초래되어 종양세포들은 이에 대한 반응으로 혈관내피세포성장인자를 생성하게 되며 이러한 기전을 통하여 종양내, 특히 괴사부위의 저산소지역에 혈관내피세포성장인자의 발현 수준이 증가하게 된다. 따라서 저산소에 의한 이러한 혈관내피세포성장인자의 과발현은 조직이 혈관증식을 통하여 산소의 증가를 이

를 수 있도록 하는 보상적인 기전으로 작용하는 것이다. 종양세포에서 분비되는 이러한 혈관내피세포성장인자는 주로 두가지 수용체, 혈관내피세포성장인자 수용체-2와 혈관내피세포성장인자 수용체-1과 결합함으로써 그 기능을 나타낸다. 주로 세포의 이동, 세포-세포간 또는 세포-간질간의 상호작용에 관여한다고 알려져 있는 혈관내피세포성장인자 수용체-1은 세포의 증식과 생존에 관여한다고 알려진 혈관내피세포성장인자 수용체-2보다 더욱더 혈관내피세포성장인자에 친화력이 있으나 매우 약한 tyrosine kinase 활성을 가지며 ligand-receptor 결합을 통한 자가인산화는 혈관내피세포성장인자수용체-2가 약 10배이상 효과적으로 일어나 여러 가지 기능을 수행한다^{3,9)}.

여러 문헌에 의하면 종양에서 이러한 혈관내피세포성장인자의 과발현은 종양의 크기나 미세혈관밀도의 증가와 밀접한 관련이 있으며 의미있는 예후인자로 알려지고 있다. Ishigami¹⁰⁾ 등은 대장암에서 병기가 높을수록, 즉 종양의 침윤과 전이에 따라 혈관내피세포성장인자의 발현이 증가되고 불량한 예후와 관계있다고 하였으며 Tokunaga 등¹¹⁾은 이 인자가 대장암에서 간전이와 관련이 있음을 보고하였다. 또한 Toi 등¹²⁾은 유방암을 가진 환자에서 혈관내피세포성장인자가 재발과 관련된 독립적인 예후인자라고 하였으며 Maeda 등¹³⁾은 위암에서 다양한 임상병리학적 요인과의 상관관계를 통해 이의 발현의 증가가 불량한 예후에 관여함을 보고하였다. 두경부영역에서는 Smith 등¹⁴⁾이 구강 및 구인두 편평상피세포암에 관한 연구에서 혈관내피세포성장인자의 과발현이 불량한 예후와 관련된 가장 중요한 요인으로 평가될 수 있음을 보고하였다. 또한 구강암 환자의 혈류에서 혈관내피세포성장인자의 수준을 연구한 Shang 등¹⁵⁾의 보고에서도 이의 정도가 임상병리학적 양상 및 국소 림프절 전이와 유의할 만한 상관관계를 가진다고 보고하였다.

종양의 치료 및 예후에 관하여 TNM 분류가 현재까지도 널리 이용되고 있으나 이는 전이 잠재력을 예상하지 못하므로 예후에 관한 적절한 신뢰도를 제공하지 못한다. 그리하여 림프절 전이를 포함하여 종양의 생물학적 활성도를 유의하게 예측할 수 있는 다양한 조직병리학적 인자들이 알려지고 있다. 림프절 미세전이와 관련하여 원발성 종양의 침윤깊이의 중요성을 보고한 Ambrosch 등¹⁶⁾의 연구를 포함하여 각화도, 핵 다형성 정도, 인접 조직으로의 침윤양상, 혈관내 침범, 신경주위 침범, 고배율하 유사분열 수, 그리고 림프세포 침윤등의 조직병리학적 지표들이 종양의 예후와 밀접한 관련이 있는 림프절 전이에 대한 예후인자로 보도되고 있다. Lopes 등¹⁷⁾은 구강편평상피세포암의 조직병리학적 특성중에서 각화도 양상이 림프절 전이와 가장 관련이 있다고 주장하였으며 험스터에 설암을 유도하여 혀와 경부 전이 림프절의 조직병리학적 특성을 연구한 Take 등²⁾은 경부 전이와 관련하여 침습양상이 가장 연관되었으며 그 다음

으로 각화도가 관련되었다고 주장하였다. Giardina 등¹⁸⁾은 Shape analytical morphometry를 이용하여 9 경위의 구강편평상피세포암에서 이의 조직학적 등급을 가장 잘 특징 지우는 것이 핵 다형성이라고 하였다. 또한 간세포성암에서 예후와 관련된 조직학적 지표를 연구한 Lauwers 등¹⁹⁾도 생존율과 관련하여 핵 다형성이 매우 중요한 지표라고 하였다.

정상조직과 비교하여 빠르고 조절되지 않은 성장을 하는 종양은 세포의 증식성이 더 크므로 종양에서의 이러한 증식성은 치료에 대한 효과 및 예후와 밀접한 상관관계를 가진다. 유사분열 수의 분석은 이러한 증식성을 빠르고 간편하게 평가할 수 있는 방법 중의 하나이다. 폐암에서 종양세포의 증식성과 종양세포 분화 정도와의 상관관계를 연구한 Cemerikic-Martinovic 등²⁰⁾은 세포자멸사와 유사분열 수가 이러한 종양세포 증식성에 대한 표지자라고 하며 세포자멸사와 함께 유사분열 수가 예후에 있어 중요한 정보를 제공한다고 하였다. 또한 2715명의 피부 흑색종환자를 분석한 Schmid-Wendtner 등²¹⁾은 피부 흑색종의 예후인자와 관련하여 유사분열 수의 중요성을 보고하였다. 본 연구에서는 각화도, 핵 다형성, 그리고 고배율하 유사분열 수의 종양세포군집 (tumor cell population)과 침습양상, 침윤깊이, 그리고 림프-형질세포 침윤의 종양-숙주관계 (tumor-host relationship)를 분석하여 구강편평상피세포암의 악성도를 연구한 Anneroth 등의 분석방법을 이용하여 설암의 조직병리학적 특성을 조사하였다. 그러나 본 연구는 근처적 절제술을 실시한 표본이 아니고 술전 조직검사 표본이므로 침습양상 등의 종양-숙주관계를 정확히 평가하기가 어려워 각화도, 핵 다형성, 그리고 고배율하 유사분열 수의 종양세포군집 특성을 분석하였다. 본 연구 결과, 각화도가 부족할수록, 그리고 핵 다형성 정도가 많이 나타난 세포일수록 술전 생검조직의 설암 종양세포에서 혈관내피세포성장인자의 발현이 유의성 있게 높게 나타났으며 유사분열 수와는 상관관계를 나타내지 않았다.

조직표본의 수가 적어 이의 통계학적 분석이 정확한 의미를 반영하는 지는 근처적 절제술에 대한 치료반응이나 생존율 등을 포함하여 더 진행된 연구가 동반되어야 하겠지만 본 연구를 통하여 설암에서도 혈관내피세포성장인자가 중요한 예후인자로 역할을 할 수 있을 것으로 사료된다.

V. 결 론

조직검사를 통하여 설암으로 진단받은 환자에서 술전 조직검사표본의 조직절편을 획득하여 설암 종양세포에서 각화도, 핵 다형성, 그리고 고배율하 유사분열 수를 분석하였으며 또한 종양세포에서 혈관내피세포성장인자의 발현양상을 관찰한 결과, 각화도가 부족하고 핵 다형성 정도가 많이 나타난 세포일수록 술전 생검조직의 설암 종양세포에서 혈

관내피세포성장인자의 발현강도가 유의성 있게 높게 나타나는 상관관계를 나타내었으며 이를 통하여 설암에서도 혈관내피세포성장인자의 발현이 유효한 악성도의 표지자로 이용될 수 있으리라 여겨진다.

참고문헌

1. Anneroth G, Batsakis J, Luna M : Review of the literature and a recommended system of malignancy grading in oral squamous cell carcinomas. *Scand J Dent Res* 95 : 229, 1987.
2. Take Y, Umeda M, Teranobu O, et al : Lymph node metastases in hamster tongue cancer induced with 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene: association between histological findings and the incidence of neck metastases, and the clinical implications for patients with tongue cancer. *Br J Oral Maxillofac Surg* 37 : 29, 1999.
3. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, et al : Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J* 13 : 9, 1999.
4. McDonnell CO, Harmey JH, Bouchier-Hayes DJ, et al : Effect of multimodality therapy on circulating vascular endothelial growth factor levels in patients with oesophageal cancer. *Br J Surg* 88 : 1105, 2001.
5. Homer JJ, Greenman J, Stafford ND : Angiogenesis in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Otolaryngol* 25 : 169, 2000.
6. Ruohola JK, Valve EM, Karkkainen MJ, et al : Vascular endothelial growth factors are differentially regulated by steroid hormones and antiestrogens in breast cancer cells. *Mol Cell Endocrinol* 149 : 29, 1999.
7. Lalla RV, Boisoineau DS, Spiro JD, et al : Expression of vascular endothelial growth factor receptors on tumor cells in head and neck squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 129 : 882, 2003.
8. Feng D, Nagy JA, Hipp J, et al : Vesiculo-vacuolar organelles and the regulation of venule permeability to macromolecules by vascular permeability factor, histamine, and serotonin. *J Exp Med* 183 : 1981, 1996.
9. Shibuya M : Structure and dual function of vascular endothelial growth factor receptor-1 (Flt-1). *Int J Biochem Cell Biol* 33 : 409, 2001.
10. Ishigami SI, Arie S, Furutani M, et al : Predictive value of vascular endothelial growth factor (VEGF) in metastasis

- and prognosis of human colorectal cancer. *Br J Cancer* 78 : 1379, 1998.
11. Tokunaga T, Oshika Y, Abe Y, et al : Vascular endothelial growth factor (VEGF) mRNA isoform expression pattern is correlated with liver metastasis and poor prognosis in colon cancer. *Br J Cancer* 77 : 998, 1998.
12. Toi M, Hoshina S, Takayanagi T, et al : Association of vascular endothelial growth factor expression with tumor angiogenesis and with early relapse in primary breast cancer. *Jpn J Cancer Res* 85 : 1045, 1994.
13. Maeda K, Chung YS, Ogawa Y, et al : Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma. *Cancer* 77 : 858, 1996.
14. Smith BD, Smith GL, Carter D, et al : Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein levels in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 18 : 2046, 2000.
15. Shang ZJ, Li JR, Li ZB : Circulating levels of vascular endothelial growth factor in patients with oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg* 31 : 495, 2002.
16. Ambrosch P, Kron M, Fischer G, et al : Micrometastases in carcinoma of the upper aerodigestive tract: detection, risk of metastasizing, and prognostic value of depth of invasion. *Head Neck* 17 : 473, 1995.
17. Lopes MA, Nikitakis NG, Reynolds MA, et al : Biomarkers predictive of lymph node metastases in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Maxillofac Surg* 60 : 142, 2002.
18. Giardina C, Serio G, Caniglia DM, et al : Nuclear morphology and histological grading of oral squamous cell carcinoma (OSCC). A morphometric study. *Boll Soc Ital Biol Sper* 70 : 271, 1994.
19. Lauwers GY, Terris B, Balis UJ, et al : Prognostic histologic indicators of curatively resected hepatocellular carcinomas: a multi-institutional analysis of 425 patients with definition of a histologic prognostic index. *Am J Surg Pathol* 26 : 25, 2002.
20. Cemerikic-Martinovic V, Trpinac D, Ercegovic M : Correlations between mitotic and apoptotic indices, number of interphase NORs, and histological grading in squamous cell lung cancer. *Microsc Res Tech* 40 : 408, 1998.
21. Schmid-Wendtner MH, Baumert J, Schmidt M, et al : Prognostic index for cutaneous melanoma: an analysis after follow-up of 2715 patients. *Melanoma Res* 11 : 619, 2001.

저자 연락처

우편번호 660-702
경상남도 진주시 칠암동 90번지
경상대학교 의과대학 치과학교실
변 준 호

Reprint Requests

June-Ho Byun

Dept. of OMFS, College of Medicine, Gyeongsang National University
90 Chilam-dong, Jinju-city, Gyeongsangnam-do, 660-702, Korea
Tel: 82-55-750-8264 Fax: 82-55-761-7024
E-mail: surbyun@nongae.gsnu.ac.kr

원고 접수일 2005년 6월 10일
게재 확정일 2005년 8월 4일

Paper received 10 June 2005
Paper accepted 4 August 2005