

자궁경부종양에서 p53 단백질발현과 맥관형성의 의의

충남대학교 의과대학 산부인과학교실, 조직병리학교실*
고지환 · 서광선* · 노홍태

=Abstract=

Angiogenesis and p53 Protein Expression in Squamous Cell Lesions of the Uterine Cervix.

Jee Hwan Ko, M.D., Kwang Sun Suh*, M.D., Hung Tae Noh, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology,

Department of Pathology College of Medicine, Chungnam National University, Taejeon, Korea*

Objective : Tumor angiogenesis is essential for the progression and metastases of solid tumors. Microvessel density(MVD), a measure of tumor angiogenesis, has a prognostic significance in many types of tumors for predicting metastasis and survival. This study had two primary goals:

1. To determine how MVD correlates with tumor invasion in early squamous cell carcinoma(SCC) of the uterine cervix, and

2. To compare p53 protein expression in normal tissue with squamous cell lesions of the uterine cervix.

Methods : Quantification of MVD was performed on 59 specimens of cervical squamous cell lesions by immunohistochemical staining for factor VIII-related antigen. MVD was counted in a x200 field in the most active area of neovascularization. The same tumor sections were also immunohistochemically stains for p53 protein.

Results : 1. Compared with nonneoplastic areas, the degree of MVD was significantly increased in low-grade squamous intraepithelial lesion, high-grade squamous intraepithelial lesion, and squamous cell carcinomas($p=0.045$). Microinvasive squamous cell carcinoma showed the highest MVD value. 2. p53 protein expression was increased in greater severity cases compared with mild cases($p=0.000$).

Conclusion : In the uterine cervix, MVD was significantly increased in microinvasive squamous cell carcinoma. p53 protein expression was well correlated with progression of squamous cell lesions.

Key Words: Angiogenesis, Microvessel density, Factor VIII, p53

서 론

자궁경부암은 한국 여성의 암 중에 가장 높은 빈도를 차지하며 통상적인 질세포진 검사를 통하여 조기 진단 및 조기 치료가 가능하나 자궁경부 상피내 종양이나 침윤성 자궁경부암으로 진단되었을 때

정확한 암세포 침윤의 정도와 예후 인자 등을 파악하여 적절한 치료를 하는 것이 중요하다. 현재까지 자궁경부암에서 밝혀진 예후 인자로는 임상병기, 병소의 크기, 암세포의 침윤정도, 선암이나 소세포암인 경우 림프절과 림프관으로의 전이 여부 등이 있다.

자궁경부암의 진단에 이용되는 질확대경검사

(colposcopy)는 자궁경부의 혈관상태에 따라서 자궁경부의 전암병소와 침윤암을 감별진단하고 있어 자궁경부암에서의 신생혈관의 정도가 암의 진행에 중요한 역할을 한다는 것을 미루어 짐작할 수 있다. 신생혈관의 형성은 종양의 성장을 돕고, 종양이 생겨 성장을 계속하기 위해서는 새로운 모세혈관 형성을 유도하게되며 진행시 종양세포가 혈관내로 유입되어 전이가 일어나게 된다.¹ 종양의 성장과 전이가 맥관형성(angio genesis)에 의존할 것이라는 가정하에, Folkman²이 악성 종양에서 종양 혈관 형성인자(tumor angiogenesis factor, TAF)를 분리하였고 이는 혈관 내피 세포의 분열을 유도하여 빠르게 신생혈관 형성을 일으킨다고 하였다.

종양억제 유전자 중 p53 유전자는 인체의 종양에서 가장 흔한 유전자 변성을 보이며,³ 유방암, 대장암, 폐암, 방광암, 간암 및 뇌종양 등에서 p53 단백질 발현이 보고되어 있다. p53 유전자 이상과 암 발생과의 연관성은 여러 가지 실험적 사실들에 의해 확인되고 있다.⁴⁻⁸ p53 유전자는 암에 관한 분자생물학적 연구에서 가장 주목을 받고 있는 유전자라고 할 수 있다. 자궁경부암에서는 p53 단백질의 돌연변이가 비교적 드물게 관찰되며, 주로 HPV 감염이 없는 경우에 관찰되고 있다고 한다.⁹

이에 본 논문은 조직 검사로 확진된 자궁경부의 저등급 편평상피내병변(low grade squamous intraepithelial lesion, LSIL), 고등급 편평상피내병변(high grade squamous intraepithelial lesion, HSIL), 미세침윤 편평세포암종(microinvasive squamous cell carcinoma), 침윤성 편평세포암종(invasive squamous cell carcinoma)을 대상으로 맥관형성과 p53 단백질발현과의 연관관계를 알아보고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

1999년 4월부터 2000년 2월까지 충남대학교병원 산부인과 외래를 방문한 환자들 중 조직병리과에 의뢰된 자궁경부암 검사에서 정상 18례, 저등급 편평상피내병변 8례, 고등급 편평상피내병변 8례, 미세침윤 편평세포암종 16례, 침윤성 편평세포암종 9례 등 총 59례를 대상으로 하였다. 정상 18례는 자궁

근종이나 자궁 선근증으로 전자궁절제술을 시행 받은 환자의 자궁경부조직을 사용하여 대조군으로 하였다.

2. 연구방법

연구 대상 환자의 조직병리표본을 재검토하여 병변을 확인한 후 파라핀에 포매된 조직절편을 박절한 후 xylene과 ethanol 용액에 담구어 30분 동안 탈파라핀화하였다. 면역조직화학적 염색은 LSAB (labelled streptavidin biotin)법으로 자궁경부 조직에서 Factor VIII에 대한 Rabbit 단일클론항체를 이용하여 면역조직화학적 검사를 시행하였다. 검사조직 내 단백질을 변성시켜 염색을 용이하게 하기 위하여 0.1 % pepsin 용액에 20분간 담가둔 후 Tris 완충 용액으로 15분간 세척한 후 내인성 peroxidase의 활성을 억제하기 위하여 3% H₂O₂ 용액에 10~15분간 처리한 후 Factor VIII 항체(Zymed, CA 18-0018, USA)를 반응시켰다. 다음으로 LSAB kit(Dako, CA, USA)와 DAB kit(Dako, CA, USA)를 적용하여 발색한 후 Mayer hematoxyline으로 대조염색 하였다. 염색한 slide는 탈수시켜 cover glass를 봉입한 후 관찰하였다.

p53 관련 단백질의 면역조직화학적 염색은 파라핀 포매조직을 5 μ m 두께로 박절하여 xylene과 알코올에 처리하여 탈파라핀화와 함수를 시킨 후 p53 단백질의 항원성을 증가시키기 위해 10 mM, citric buffer(pH 6.0)에 넣은 다음 고압멸균(121 $^{\circ}$ C, 10분)하였다. 그 후 실온에서 냉각시킨 다음 내인성 과산화효소의 활성을 억제시키기 위해 3% 과산화수소를 사용하여 10분간 처리한 후 Tris 완충용액(0.05 M, pH 7.6)으로 세척하였다. 사용된 일차 항체는 p53 단백질 아미노산 중 염기서열 37~45 부분(exon 4)을 항원 결정기로 사용하는 단클론성 항체인 DO7(DACO사)을 사용하였으며 각 조직 절편에 충분한 양을 점적시켜 실온에서 60분간 반응시킨 후 LSAB (labelled streptavidin biotin)법을 이용하여 염색을 실시하였고 발색은 DAB kit(3,3'-diaminobenzidine)로 하였다.

미세혈관의 수는 각 조직에 대하여 임상적 정보를 모르는 1인의 병리 의사가 판독을 하였는데, 우선 40배와 100배율 하의 현미경에서 가장 신생혈관의 밀도가 높은 부위를 찾아 200배율 하의 현미경에

서 염색된 각각의 미세혈관의 숫자를 계산하였다. p53 단백질은 종양세포의 핵내에 명확한 갈색과립을 보이는 세포가 전체 종양세포의 5% 이상일 경우를 양성으로 판독하였다.

통계적 분석은 SPSS의 t test와 ANOVA test를 이용하였고, p 값이 0.05 미만인 경우 통계적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 연령별 분포

대조군의 평균연령은 38.2세였고, LSIL군은 36.9세, HSIL군은 40.9세, 미세침윤 편평세포암종군은 46.4세, 침윤성 편평세포암종군은 51.1세로 각 군간에는 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

2. 신생혈관수의 비교(Table 1,2)(Fig. 1~3)

대조군이 43.3개, LSIL군이 71.0개, HSIL군이 52.3개, 미세침윤 편평세포암종군이 71.3개, 침윤 편평세포암종군이 46.1개로 나타났으며, 각 군간의 신생혈관 수 증가는 통계적으로 의미가 없었다(p=0.564). 또한 대조군, LSIL, HSIL과 미세침윤 편평세포암종, 침윤성 편평세포암종으로 비교하였을 때 미세혈관 수의 증가는 통계적으로 의미가 없었다

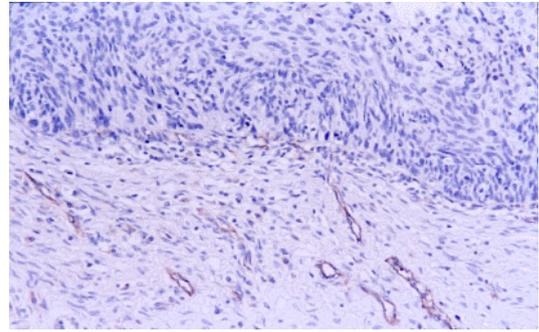


Fig 1. Microvessels in high grade squamous intraepithelial lesion identified by immunochemical staining for factor VIII. (x200)

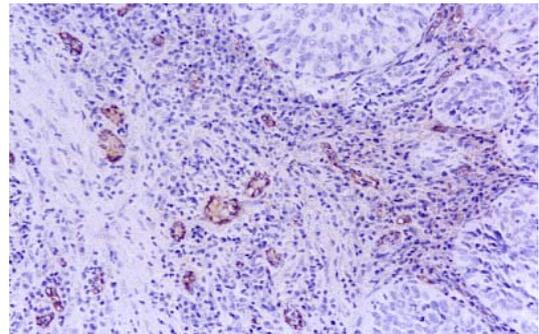


Fig 2. Microvessels in microinvasive squamous cell carcinoma identified by immunochemical staining for factor VIII. (x200)

Table 1. Patient's characteristics and microvessel density

| Characteristics (n=59) | Control (n=18) | LSIL* (n=8) | HSIL † (n=8) | Microinvasive SCC ‡ (n=16) | Invasive SCC ‡ (n=9) | p-value |
|------------------------|----------------|-------------|--------------|----------------------------|----------------------|---------|
| Age(years) | 38.2 | 36.9 | 40.9 | 46.4 | 51.1 | NS |
| Microvessel Density | 43.3 | 71 | 52.3 | 71.3 | 46.1 | 0.564 |

NS : non-significant

*: LSIL; Low-grade squamous intraepithelial lesion

†: HSIL; High-grade squamous intraepithelial lesion

‡: SCC; Squamous cell carcinoma

Table 2. Microvessel density difference of control vs. microinvasive SCC.

| Characteristics (n=34) | Control (n=18) | Microinvasive SCC* (n=16) | p-value |
|------------------------|----------------|---------------------------|---------|
| Microvessel Density | 43.3 | 71.3 | 0.564 |

*: SCC; Squamous cell carcinoma

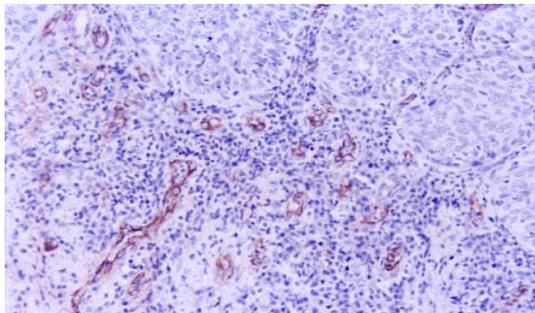


Fig 3. Microvessels in invasive squamous cell carcinoma identified by immunohistochemical staining for factor VIII. (×200)

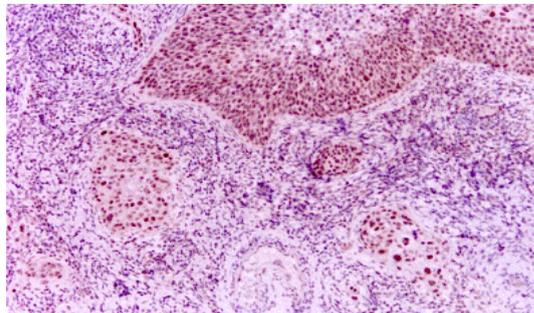


Fig 4. Immunohistochemical staining for p53 protein in microinvasive squamous cell carcinoma. (×200)

($p=0.449$). 하지만, 대조군과 LSIL, HSIL, 미세침윤 편평세포암종, 침윤 편평세포암종으로 비교하였을 경우에는 신생혈관 수의 증가가 통계적으로 의미가 있었다($p=0.045$). 정상과 미세침윤 편평세포암종만을 비교하였을 때에도 신생혈관 수의 증가는 통계적으로 의미가 있었다($p=0.006$)

3. p53 단백질 발현의 비교(Table 3)(Fig 4~6)

p53 단백질 염색은 대조군에서는 모두 음성이었고, LSIL군은 양성인 2예, HSIL군은 양성인 3예, 미세침윤 편평세포암종군에서는 양성인 14예, 침윤성 편평세포암종군에서는 양성인 8예에서 나타났다.

또한 p53 단백질 염색이 양성인 경우에서 5%~10%인 경우를 (+)로, 11%~30%인 경우를 (++)로, 31% 이상인 경우를 (+++)로 나누었을 때 LSIL군인 경우에는 2예 모두가 (+), HSIL군은 (+), (++) , (+++)가 각각 1예씩이었으며, 미세침윤 편평세포암종군에

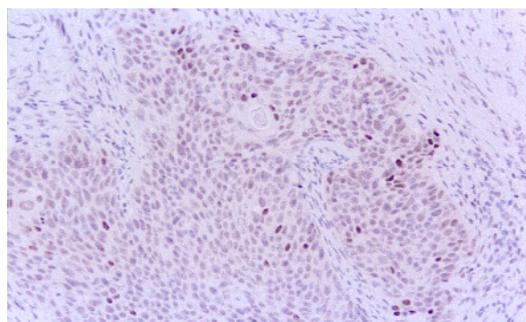


Fig 5. Immunohistochemical staining for p53 protein in invasive squamous cell carcinoma: Most of tumor cells shows nuclear staining. (×200)

서는 (+)가 4예, (++)가 4예, (+++)가 6예였고, 침윤성 편평세포암종군에서는 (+)가 1예, (+++)가 7예로 침윤성 편평세포암종군으로 갈수록 p53 단백질 염색의 정도(%)가 높아졌다($p=0.000$)

Table 3. p53 protein expression

| Characteristics (n=59) | Control (n=18) | LSIL* (n=8) | HSIL † (n=8) | Microinvasive SCC ‡ (n=16) | Invasive SCC ‡ (n=9) |
|---------------------------|-------------------|----------------|-----------------|----------------------------------|----------------------------|
| 0%(-) | 18(100%) | 6(75.0%) | 5(62.5%) | 2(12.5%) | 1(11.1%) |
| 5%~10%(+) | | 2(25.0%) | 1(12.5%) | 4(25.0%) | 1(11.1%) |
| 11~30%(++) | | | 1(12.5%) | 4(25.0%) | |
| 31%이상(+++) | | | 1(12.5%) | 6(37.5%) | 7(77.8%) |

NS : non-significant

*: LSIL; Low-grade squamous intraepithelial lesion

†: HSIL; High-grade squamous intraepithelial lesion

‡: SCC; Squamous cell carcinoma

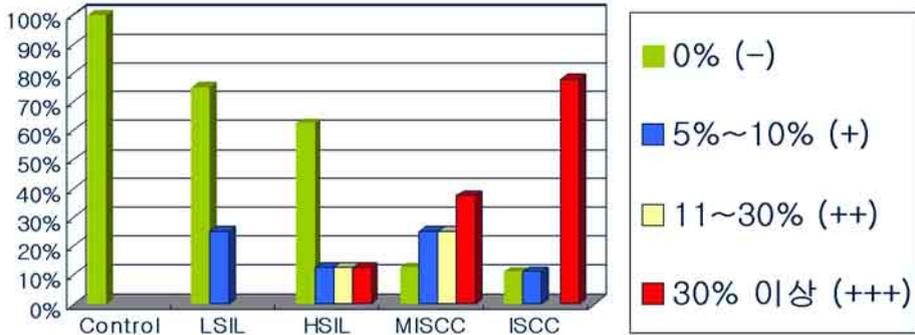


Fig 6. Comparison of p53 protein expression: LSIL; Low-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL; High-grade squamous intraepithelial lesion, MISCC; Microinvasive squamous cell carcinoma, ISCC; Invasive squamous cell carcinoma.

고 찰

자궁경부암은 우리나라 여성에서 발생하는 악성 종양 중 가장 발생빈도가 높은 질병으로 그 원인인자에 대한 연구는 국내외적으로 활발하게 진행되고 있다. 최근에는 암세포가 증식하면서 혈관생성인자에 의해 미세혈관이 생겨나 종양의 성장과 전이를 촉진하며 종괴의 크기가 크고 신생혈관이 많을수록 암세포가 전이할 가능성이 높아진다는 보고가 계속되고 있다.

종양세포는 여러 종류의 맥관형성인자들과 기질분해요소 그리고 대식세포, 비만세포, 림프구 등에서 맥관형성인자들을 분비하게 하는 화학주성인자(chemotactic factor)를 분비한다. 혈관 생성인자로는 transforming growth factor(TGF), endothelial cell growth factor(ECGF), fibroblast growth factor(FGF), angiogenin, prostaglandin 특히, PGE1, PGE2 등이 알려져 있다. 분비된 맥관형성인자들은 기질분해효소에 의해 신생혈관에 쉽게 침투하게 되어 혈관 내피세포에 존재하는 수용체와 결합하여 신생혈관 생성을 자극하게 되면, 종양세포와 내피세포에서 분비된 단백질분해효소에 의해 기저막이 분해되고 내피세포가 종양쪽으로 이동하게 된 후 증식하여 관을 형성하게됨으로써 새로운 모세혈관이 생성된다고 알려져 있다.

맥관형성능력은 미세혈관의 현미경학적 크기 때

문에 측정이 어려워 표지물질로 Factor VIII을 특수 염색하여 평가하는데 Factor VIII 단일항체를 이용한 면역조직화학적 검사는 간편하고 유용한 방법이다. Factor VIII을 이용한 연구가 대부분이지만 그 외에도 암세포의 내피세포를 구분하기 쉽게 하기 위해 개발된 새로운 물질인 CD31, CD34를 이용한 연구도 보고되고 있다. CD34는 기질섬유아세포(stromal fibroblast)에 다양한 염색을 보이고 CD31은 염증세포에 염색되며 Factor VIII-related antigen은 림프관에 염색되는 특징이 있다.

자궁 경부의 편평세포암종에서 맥관형성의 의의에 대하여 다양한 결과가 보고되고 있다. Schlenger 등¹⁰ 은 자궁경부암 IB에서 IVA인 환자의 맥관형성능에 대해 미세혈관의 증가는 침윤암에서 독립적인 예후 인자라고 하였고, Bremer¹¹등도 MVD는 자궁경부암 IB와 IIA인 환자에서 progression free survival에 독립적인 예후 인자라고 주장하였다. 반면에 Rutgers 등¹² 은 자궁경부암 I~IV기에서 신생혈관과 예후는 상관관계가 없음을 주장하였고, Kainz 등¹³ 도 자궁경부암에서 낮은 MVD가 좀 더 나쁜 예후를 갖는다고 주장하였다. 하지만, Abulafia 등¹⁴ 은 이전의 결과들을 토대로 하여 자궁경부 편평세포암은 신생혈관능과 상관관계가 있다고 결론을 내렸다.

Davidson¹⁵ 등에 의하면 CIN(cervical intraepithelial neoplasia) III에서 침윤성 편평세포암종으로 갈수록 microvessel count가 증가하지 않았는데, 그 이유는 침윤성 편평세포암종이 미세침윤 편평세포암종나

사마귀암종(verrucous carcinoma)에 비해서 기질이 결핍되어 있기 때문이라고 하였다. 본 연구에서도 Factor VIII을 이용한 맥관형성은 대조군에 비해 자궁 경부에 병변(LSIL, HSIL, 미세침윤 편평세포암종군, 침윤성 편평세포암종군)이 있는 경우 더 의미 있게 증가하였다. 하지만, 침윤성 편평세포암종군에서는 맥관형성능이 저하된 결과가 나왔는데 이는 박절된 조직이 대부분 암 조직으로 기질조직이 적기 때문으로 생각한다.

p53 유전자는 17번 염색체의 단완에 존재하는데 16~20kb의 DNA로 구성되며 11개의 exon으로 이루어져 있다. p53 유전자에 의하여 만들어지는 p53 단백질은 393개의 아미노산으로 구성된 53 kD의 핵내인 단백질로, 정상세포 내에서는 소량 존재하다가 세포에 DNA 손상이 발생하면 그 농도가 증가하여 손상된 세포가 세포 주기 G1 phase에서 S phase로 들어가는 것을 차단함으로써 비정상적인 세포가 그대로 세포주기로 들어가 증식되는 것을 막고 손상된 DNA를 복구하도록 하며 손상이 회복되지 못할 경우에는 비정상 세포를 제거하기 위한 apoptosis를 유발시킨다.¹⁶ 이런 p53의 작용에 WAF1/CIP1 유전자가 관계가 있는 것으로 최근 보고되고 있는데 p53 단백질이 중요한 세포주기 조절 유전자인 WAF1/CIP1의 전사를 촉진시키는 것으로 보인다. 이렇게 해서 형성된 WAF1/CIP1 유전자의 산물 p21은 cyclin dependent kinase의 작용을 억제시킴으로써 DNA 손상 후 따른 p53의 작용을 매개하게 되는 것이다.¹⁷

p53 유전자가 자궁경부암의 발생에 관여한다는 사실은 다음과 같은 사실에서 확인할 수 있다. 첫째, 자궁경부암 조직을 핵형분석해보면 p53 유전자가 위치해 있는 염색체 17번 단완의 이상을 자주 발견할 수 있으며 둘째, 자궁경부암의 발생에 중요한 역할을 하는 HPV의 E6 단백질이 p53 단백질과 결합하여 ATP-dependent ubiquitin protease pathway를 통해 분해를 촉진시킴으로써 p53의 작용을 방해한다는 것이다.¹⁸ 일반적으로 p53 유전자의 기능소실은 유전자 자체의 변이에 의해 비정상적인 단백질이 생성되거나 바이러스 단백질과 결합함으로써 일어난다. 그런데 자궁경부암에서 p53 종양억제 유전자의 변이 빈도는 2~11%로 자궁경부암의 일부에서만 이를 발견할 수 있는 것으로 보아,¹⁹ 자궁경부암에서의 p53 기능 소실에는 HPV가 관여하는 것으로 생각

되었고 이는 여러 연구에서 확인되고 있다. 즉 HPV의 early protein 중 세포의 형질 전환을 일으키는 E6, E7 단백질이 세포성장을 조절하는 p53 단백질과 망막아세포종 단백질(RB)과 각각 결합하여 불활성화시키게 된다.²⁰

지금까지 알려진 p53의 유전자의 기능 소실 기전으로는 p53 유전자의 변이, 바이러스 단백질과의 결합, MDM 유전자 과발현 등이 있으며, HPV와 같은 DNA 종양바이러스가 암을 유발하는 기전은 세포내 조절 단백질과의 특이 반응설이 유력하다.²¹ 자궁경부암의 경우 DNA 종양 바이러스인 HPV의 E6와 E7 단백질에 의한 p53 및 Rb 단백질의 불활성화가 암의 발생 과정에 중요하며, p53 변이에 의한 기능 소실이 암의 발생 및 진행 과정에 작용하는 것으로 추정되고 있다. Riou등²¹은 HPV 음성인 환자들이 예후가 좋지 않다는 것과 p53 점변이와의 연관성을 제시하며, p53 유전자 변이가 초기 암 발생 단계와 침윤암으로 진행하는데 관여할 가능성을 시사하였다.

p53 유전자 산물인 p53 단백질은 정상세포에서는 wild type으로 존재하여 세포의 성장을 억제하고 있으나, 그 양이 매우 적어 일반적인 면역조직화학 염색에서는 잘 발현되지 않는다. 반면에 p53 단백질의 돌연변이형은 암 유전자로 작용하여 많은 종류의 암세포에서 과발현되므로 악성종양의 발생과 진행에 관여하고 있으리라 추정되고 있다. 본 연구에서는 p53 단백질 발현의 경우 침윤성 편평세포암종군으로 진행될수록 훨씬 더 높은 발현률을 보였다. 이 사실로 미루어 보아 맥관형성능과 p53 단백질 발현이 자궁경부암의 예후 인자인 것은 확실하며, 이러한 사실을 뒷받침하기 위해서 자궁경부암의 또 다른 예후 인자인 HPV와 p53 단백질 발현에 관해 더 많은 연구가 필요할 것이다.

결 론

1999년 4월부터 2000년 2월까지 충남대학병원에서 조직학적으로 확진된 정상자궁경부 18례, 저등급 편평상피내병변군 8례, 고등급 편평상피내병변군 8례, 미세침윤 편평세포암종군 16례, 침윤성 편평세포암종군 9례 등 총 59례를 대상으로 환자의 임상기록을 고찰하고 파라핀 포매 조직으로부터 혈관

세포에 특징적으로 염색되는 factor VIII 단일 항체를 이용하여 종양 내 미세혈관 숫자를 계산하고, 면역화학적 검사를 이용하여 p53 단백질 발현을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 자궁경부의 저등급 편평상피내병변군, 고등급 편평상피내병변군, 미세침윤 편평세포암종군, 침윤 편평세포암종군에서 대조군과 비교하여 microvessel density가 의미 있게 증가되었다.(p=0.045)

2. 신생혈관 수에서는 저등급 편평상피내병변군과 미세침윤 편평세포암종군에서 71개와 71.3개로 대조군과 다른 병변에 비해 높게 나왔지만 통계적 의의는 없었다.(p=0.564)

3. 정상과 미세침윤 편평세포암종군만을 비교하였을 때는 신생혈관 수 증가는 통계적으로 의미가 있었다. (p=0.006)

4. p53 단백질 염색은 대조군에 비해 자궁경부질환이 있는 경우에서 의미 있게 증가되었으며, 편평상피내병변군에서 미세침윤 편평세포암종군, 침윤성 편평세포암종군으로 갈수록 염색되는 정도(%)가 높아졌다.(p=0.000)

결론적으로, 대조군에 비해 미세침윤 편평세포암종군에서 신생혈관 수가 의미 있게 증가하였으며, p53 단백질 발현의 경우 편평상피내병변군에서 침윤성 편평세포암종군으로 갈수록 단백질 발현의 정도가 높았다. 침윤성 편평세포암종군에서 맥관형성능이 저하된 것을 볼 수 있는데 이는 침윤성 편평세포암종군의 경우 박절된 조직이 대부분 암 조직과 기질로 이루어져 있어 신생혈관이 잘 관찰되지 않았던 것으로 생각되며, 자궁경부암의 발생에 중요한 역할을 하는 HPV virus와 맥관형성능 및 p53 단백질 발현에 대한 연구는 향후 연구되어야 할 부분이라고 생각된다.

- 참고 문헌 -

1. Gimbrone NA, Leapman SB, Cotran RS, et al. Tumor dormancy in vivo by prevention of neovascularization. N Eng J Med 1971; 136: 261.

2. Folkman J. Tumor angiogenesis : Therapeutic implication. N Engl J Med 1971; 285: 1182.

3. Chang F, Syrjanen S, Terahauta A. Tumorigenesis associated with the p53 tumor suppressor gene. Br J Cancer 1993; 68: 653.

4. Frebourg T, Friend SH. Cancer risks from germline p53 mutations. J Clin Invest 1992; 90: 1637.

5. Lavigne A, Maltby V, Mock D, et al. High incidence of lung, bone, and lymphoid tumor in transgenic mice overexpressing mutant alleles of the p53 oncogene. Mol Cell Biol 1989; 9: 3982.

6. Donehower LA, Harvey M, Slagle BL, et al. Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumors. Nature 1992; 365: 215 .

7. Levine AJ. The p53 protein and its interaction with the oncogene products of the small DNA tumor virus. Virology 1990; 177: 419.

8. Oliner JD, Kinzler KW, Meitzer PS, et al. Amplification of a gene encoding a p53 associated protein in human sarcomas. Nature 1992; 358: 80.

9. Paquette RL, Lee YY, Wilczynski SP, et al. Mutation of p53 and human papillomavirus infection on cervical carcinoma. Cancer 1993; 72: 1272.

10. Schlenger K, Hockel M, Mitze M, et al. Tumor vascularity - a novel prognostic factor in advanced cervical carcinoma. Gynecol Oncol 1995; 59: 57.

11. Bremer GL, Teibosch Anton TMG, Putten Hans WHM, et al. Tumor angiogenesis : An independent prognostic parameter in cervical cancer. Am J Obstet Gynecol 1996; 174: 126.

12. Rutgers JL, Mattox TF, Vargas MP. Angiogenesis in uterine cervical squamous cell carcinoma. Int J Gynecol Pathol 1995; 14: 114.

13. Kainz C, Speiser P, Wanner C, et al. Prognostic value of tumor microvessel density in cancer of the uterine cervix stage Ib to IIb. Anticancer Res 1995; 15: 1549.

14. Abulafia O, Triest WE, Sherer DM. Angiogenesis in squamous cell carcinoma in situ and microinvasive carcinoma of the uterine cervix. Obstet Gynecol 1995; 88: 927.

15. Davidson B, Goldberg I, Kopolovic J. Angiogenesis in Uterine Cervical Intraepithelial Neoplasia and Squamous Cell Carcinoma: An Immunohistochemical Study. Int J Gynecol Pathol 1997; 16: 335.

16. Hansen R, Oren M. P53: from inductive signal to cellular effect. Curr Opin Gen Devel 1997; 7: 46.

17. Butz K, Shahabeddin L, Geison C. Functional p53 protein in human papillomavirus-positive cancer cells. Oncogene 1995; 10: 678.

18. Park DJ, Wilczynski SP, Paquette RL, et al. p53

- mutations in HPV-negative cervical carcinoma. *Oncogene* 1994; 9: 205.
19. Street D, Delgado G. The role of p53 and HPV in cervical cancer. *Gynecol Oncol* 1995; 58: 287.
20. Schffner M, Munger K, Gyrm JC, et al. The state of the p53 and retinoblastoma genes in human cervical cancer cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991; 88: 1353.
21. Riou G, Favre M, Jeannel D, et al. Association between poor prognosis in early-stage invasive cervical carcinomas and non-detection of HPV DNA. *Lancet* 1990; 335: 1171.

= 국문 초록 =

목적 : 종양의 신생혈관 생성은 고형 종양의 진행과 전이에 필수적이다. 미세혈관밀도(MVD), 종양의 신생혈관 측정은 많은 종류의 종양에서 전이와 생존의 예후적 중요성을 갖는다. 이 연구의 두 가지의 목표는,

1. 종양 신생혈관 생성의 측정으로서 MVD가 어떻게 자궁경부의 조기 편평세포암종에서 암 침윤에 관계가 있는가를 확인한다.
2. 정상 조직과 자궁경부의 편평세포암종에서의 p53 단백발현을 비교한다.

연구방법 : 미세혈관 측정은 Factor VIII 관련 항원의 면역조직화학적 염색에 의해 59예의 자궁 편평상피세포 병변에서 시행하였다. MVD는 신생혈관 생성이 가장 활발한 부위에서 현미경 x200의 배율로 계산하였다. 또한 같은 종양 부위에서 p53 단백을 측정하기 위해 면역화학적 염색이 시행되었다.

결과 : 1. 비암성 부위와 비교하여 MVD는 저등급 편평상피내병변, 고등급 편평상피내병변, 편평세포암종군에서 의미 있게 증가하였고, 미세침윤 편평상피세포암종에서 가장 높게 측정되었다. 2. p53 단백발현은 비암성 병변에서 양성 병변으로 갈수록 증가하였다.

결론 : 자궁경부에서, MVD는 미세침윤 편평상피세포암종에서 의미있게 증가하였다. p53 단백발현은 편평상피세포 병변의 진행 정도는 연관이 있었다.

중심단어 : 맥관형성, 미세혈관밀도, Factor VIII, p53