신세포암에서 혈청 혈관내피성장인자 수치의 예후인자로서의 가치

Serum Levels of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) as a Prognostic Factor in Renal Cell Carcinoma

Nam Sung Kwon, Moon Ki Jo, Hyun Moo Lee[1]

From the Department of Urology, Korea Cancer Center Hospital, [1]Department of Urology, College of Medicine, Sungkyunkwan University, Seoul, Korea

Purpose: Vascular endothelial growth factor (VEGF) is recognized as a potent constituent of the vascularization and growth of solid tumors. We assessed the serum levels of VEGF and we evaluated its correlation to the clinicopathologic findings and clinical outcome of patients with renal cell carcinoma (RCC).

Materials and Methods: Serum samples were collected before surgery from patients with RCC. The levels of serum VEGF were assessed by using quantitative enzyme immunoassay. Comparison of the serum VEGF level with the tumor stage, grade, cell type and clinical outcome was performed, and the survival rate between the RCC patients above and below the mean VEGF level was evaluated.

Results: The mean follow-up was 5.1 years. The serum VEGF level was significantly higher in the patients with RCC (mean: 497pg/ml) than that in the controls (mean: 211pg/ml) ($p < 0.001$). The serum VEGF level was correlated with the tumor size, the pathologic T stage and the clinical stage and histologic nuclear grade, but not with the histologic subtype. Patients with a lower VEGF level (<497pg/ml) showed longer survival (p=0.0207 on univariate analysis, p=0.04 on multivariate analysis).

Conclusions: Our study indicated that the serum VEGF level was significantly correlated with the clinical or pathologic stage, the nuclear grade and adverse survival. These results suggest that the serum VEGF level could be a comparable prognostic factor to the tumor stage and grade. **(Korean J Urol 2007;48:1219-1223)**

Key Words: Renal cell carcinoma, Vascular endothelial growth factor, Prognosis

대한비뇨기과학회지
제 48 권 제 12 호 2007

원자력병원 비뇨기과, [1]성균관대학교 의과대학 비뇨기과학교실

권남성 · 조문기 · 이현무[1]

접수일자 : 2007년 8월 1일
채택일자 : 2007년 10월 1일

교신저자: 조문기
원자력의학원 원자력병원
비뇨기과
서울시 노원구 공릉 2동 215-4
㉾ 139-706
TEL: 02-970-1299
FAX: 02-978-2005
E-mail: andrea@kcch.re.kr

서 론

신세포암은 전체 악성 종양의 2-3%를 차지하며 신장에서 발생하는 원발성암의 80-90%를 차지하고 환자의 20-30%는 진단 당시 원격 전이가 발견된다.[1] 또한 신세포암의 자연경과는 다양하게 나타나며 기존의 치료 방법에 저항성을 보이는 경우가 많아 그 예후를 예측하기 어렵기 때문에 최근에는 예측인자를 찾기 위한 다양한 분자생물학적인 노력이 이루어지고 있다.[2-4] 대부분의 신세포암은 풍부한 혈관분포를 보이고 특히 진행성 신세포암에서는 신혈관생성과 혈관신생물질들이 증가하는데 혈관내피성장인자 (vascular endothelial growth factor; VEGF)의 mRNA 발현 증가가 그 한 예이다.[5] 혈관신생은 고형암의 성장 및 전이에 필수적인 과정으로 다양한 혈관신생인자들이 이에 관여를 하는데 VEGF는 종양혈관신생에 관련된 강력하고 중요한 내피세포 관련 cytokine이다.[6,7] 또한 최근 여러 연구에서 신세포암에서 정상조직에 비해 VEGF의 발현이 증가하고 신혈관생성이 신세포암의 예후에 관여할 것이라는 주장이 나오고 있다.[8,9] 따라서 본 연구는 환자의 술 전 혈청 VEGF의 수치를 측정하여 이를 신세포암의 각 병기 및 조직분화도와의 상관관계를 조사하고 생존율 비교분석을 통하여 예후인자로서의 가치를 살펴보고자 한다.

대상 및 방법

1999년 11월부터 2007년 5월까지 본원에서 신세포암으로 근치적 신절제술을 시행한 환자 중 술 전 혈청 VEGF를 측정하였고 다른 장기에 종양이 있거나 심한 감염 질환이 있는 환자를 제외한 107명을 대상으로 하였다. 다른 증상 및 건강검진 목적으로 내원하여 외래 선별 검사를 받은 환자 중 검사에 동의하여 VEGF를 측정한 건강한 대상자에서 연령에 맞추어 45명의 대조군을 선정하였다. 혈청 VEGF 수치는 술 전 말초혈관에서 채취한 혈액을 영하 70도 이하에서 분석 전까지 보관하고 원심 분리한 후 정량적인 효소면역분석 (quantitative enzyme immunoassay by Quantikine, R&D Systems®)을 통하여 측정하였다. 대상 환자의 술 전 방사선학적 검사 및 골주사검사 등을 통하여 임상적 병기를 설정하였으며 술 후 조직학적 병기 및 조직분화도, 추적 관찰 기간 중 재발 및 전이 여부 등을 조사하여 각각의 임상 결과에 따른 혈청 VEGF 수치를 비교 분석하였다. 병기는 2002년 개정된 TNM 분류, 세포 분화도는 Fuhrmann 분류에 따라 설정하였으며[10] 종양 조직형태는 World Health Organization (WHO) 기준에 따라 분류하였다.[11]

결과 분석에서 대조군과의 평균치 비교는 Student's t-test를, 종양의 병기, 세포 분화도, 임상 병기에 따른 혈청 VEGF 수치의 차이 분석을 위하여 one-way ANOVA를 시행하였고 각 병기 및 분화도 간의 차이를 보기 위하여 사후 검정으로 Tukey test를 적용하였다. 나이와 종양 크기와의 상호관계에는 Pearson 상관분석을 하였으며, 혈청 VEGF 수치에 따른 단변량 생존분석에 Kaplan-Meier curve 및 log rank test를, 다변량 생존분석으로 Cox hazard regression model에는 종양 크기, T 및 임상병기, 세포 분화도 등의 예후 인자들을 포함하였다. 조직아형에 따른 차이 분석은 Kruskal-Wallis 법을 적용하였다. 통계 분석에는 SPSS 12.0K for Windows 프로그램을 사용하였으며 p값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

Table 1. Clinical characteristics of the patients

	RCC Mean±SD	Control Mean±SD	p-value*
No. of patients	107	45	
Age	61.1±12	59.4±14	0.79
Gender (Male:Female)	67:40	24:21	
Follow-up (years)	5.1±1.9		
s. VEGF (pg/ml)	497±423	211±188	＜0.001
Tumor diameter (cm)	5.86±2.76		

RCC: renal cell carcinoma, s. VEGF: serum vascular endothelial growth factor, SD: standard deviation, *: Student's t-test

결 과

조사 대상이었던 신세포암 환자 107명의 평균 연령은 61.1세였으며 대조군은 59.4세로 통계적으로 유의한 차이가 없었다 (p=0.79). 신세포암 환자의 남녀비는 약 1.7대 1이었으며 종양 크기는 평균 5.86cm, 평균 추적관찰 기간은 5.1년이었다. 신장암 환자의 혈청 평균 VEGF 수치는 497pg/ml (표준편차: 423)로 대조군의 211pg/ml (표준편차: 188)에 비하여 유의하게 높았다 (p＜0.001) (Table 1). 신세포암 의증으로 신절제술을 시행하였으나 병리조직 검사에서 5례가 혈관근지방종으로 진단되었고 이들의 평균 혈청 VEGF는 345pg/ml이었다. Pearson 상관분석을 통하여 혈청 VEGF 수치와 나이 및 종양 크기와의 상관관계를 분석한 결과 종양 크기는 유의한 상관관계를 보였으나 (p=0.004) 나이는 상관관계가 없었다 (Table 2). T 병기는 혈청 VEGF와 높은 연관

Table 2. Correlation analysis of serum VEGF with age and tumor size by Pearson's correlation coefficient analysis

	s. VEGF	
	r*	p-value
Age	−0.05	0.62
Tumor size	0.32	0.004

s. VEGF: serum vascular endothelial growth factor, *: Pearson's correlation coefficient

Table 3. Comparison of the serum VEGF level according to the pathologic T stage by one way ANOVA and the Post Hoc Tukey test

	No. of patients	s. VEGF (pg/ml) Mean±SD	Post Hoc test	One-way ANOVA
			p-value*	p-value
Control	45	211±188		
			0.324	
pT 1	53	322±231		＜0.001
			0.032	
2	25	635±597		(F=9.807†)
			0.925	
3-4	29	665±404		

s. VEGF: serum vascular endothelial growth factor, pT: pathologic T stage, *: Post Hoc Tukey test, †: F cumulative probability of one-way ANOVA

성을 보였으며 (p<0.001) 사후검정에서 T1과 T2에서 차이를 보였으나 (p=0.032) T2와 T3 이상 사이에는 차이가 없었다 (Table 3). 세포 분화도 역시 혈청 VEGF와 높은 연관성을 보였으며 (p<0.001) 사후검정에서는 grade 2와 3 간의 차이가 컸다 (p=0.006) (Table 4). 그리고 임상병기도 혈청 VEGF와 높은 연관성을 보였으며 (p<0.001) 사후검정 시 병기 3과 4 사이에 차이가 큰 것으로 나타났다 (p=0.012) (Table 5).

VEGF 수치에 따른 생존율을 비교하기 위해 신세포암군의 평균치인 497pg/ml보다 높은 군과 낮은 군으로 나누어 Kaplan-Meier 생존 곡선을 이용하여 분석한 결과, 5년 생존율이 VEGF치가 높은 군에서 63%, 낮은 군에서는 87%로 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이를 보였다 (log rank 5.35, p=0.0207) (Fig. 1). 또한 Cox hazard regression model을 통한 종양 크기, T 병기, 조직분화도, 임상 병기 등의 예후인자에 대한 다변량 분석 역시 VEGF 수치에 따라 생존율의 유의한 차이가 있었다 (p=0.04) (Table 6).

병리학적 보고에서 분류가 가능하였던 대상 중 종양 조직형태에 따른 혈청 VEGF 평균수치는 투명세포형 (clear type)

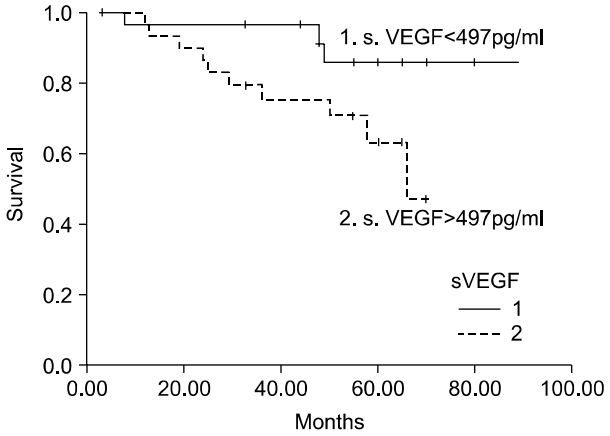


Fig. 1. Comparing the survival rate of the group with a serum vascular endothelial growth factor (s. VEGF) level>497pg/ml-renal cell carcinoma (RCC) with the group having a s. VEGF level <497pg/ml-RCC by the Kaplan-Meier curves and the log rank test (p=0.0207, log rank 5.35).

Table 4. Comparison of the serum VEGF level according to pathologic T stage by one way ANOVA and the Post Hoc Tukey test

	No. of patients	s. VEGF (pg/ml) Mean±SD	Post Hoc test	One-way ANOVA
			p-value*	p-value
Control	45	211±188		
			0.896	
Grade 1	17	246±122		<0.001
			0.156	
2	39	360±257		(F=8.249†)
			0.006	
3-4	31	673±632		

s. VEGF: serum vascular endothelial growth factor, *: Post Hoc Tukey test, †: F cumulative probability of one-way ANOVA

Table 5. Comparison of the serum VEGF level according to the clinical stage by one way ANOVA and the Post Hoc Tukey test

	No. of patients	s. VEGF (pg/ml) Mean±SD	Post Hoc test	One-way ANOVA
			p-value*	p-value
Control	45	211±188		
			0.184	
Stage 1-2	63	364±285		<0.001
			0.181	
3	17	548±298		(F=18.057†)
			0.012	
4	27	1,032±648		

s. VEGF: serum vascular endothelial growth factor, *: Post Hoc Tukey test, †: F cumulative probability of one-way ANOVA

Table 6. Multivariate analysis of the survival rate according to the prognostic factors by the Cox hazard regression model

Prognostic factor	RR (95% CI)	p-value
s. VEGF (<497 vs. >497pg/ml)	4.337 (1.067-17.625)	0.040
Size (<5.86 vs. >5.86cm)	2.271 (0.753-6.854)	0.146
pT (1, 2 vs. 3, 4)	0.349 (0.060-2.047)	0.244
Grade (1, 2 vs. 3, 4)	1.151 (0.461-2.873)	0.763
Stage (1, 2 vs. 3, 4)	0.680 (0.087-5.296)	0.713

s. VEGF: serum vascular endothelial growth factor, pT: pathologic T stage, RR (95% CI): relative risk (95% confidence interval)

Table 7. Comparison of the serum VEGF level according to the histologic subtypes by the Kruskal-Wallis test

Histologic subtypes*	No. of patients (%)	s. VEGF (pg/ml) Mean±SD	p-value
Clear	71 (81.6)	448±444	
Papillary	9 (10.3)	387±204	0.874
Chromophobe	4 (4.6)	396±125	(r=0.695†)
Sarcomatoid	3 (3.4)	314±101	

s. VEGF: serum vascular endothelial growth factor, *: unclear or unclassified subtypes (No.=20) were excluded, †: chi-square of Kruskal-Wallis test

은 448pg/ml, 유두상형 (papillary type)은 387pg/ml, 혐색소성형 (chromophobe type)은 396pg/ml, 육종양형 (sarcomatoid type)에서는 314pg/ml로 투명세포형에서 가장 높게 측정되었으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Table 7).

고 찰

현재까지 가장 중요한 예후 인자는 수술 당시의 병기로 알려져 있다.[12,13] 그러나 신세포암은 예측하기 어려운 임상경과를 보이는 대표적인 종양으로서 신세포암의 예후인자를 밝히기 위한 다양한 연구가 진행되어 왔으며 많은 수의 혈청 및 면역조직학적 표식자가 예후인자로서 제안되고 있다. 신혈관생성은 여러 종류의 혈관신생 유도인자 (VEGF, PDGF, bFGF, angiogenin 등)와 억제인자 (TIMP-1, TIMP-2 등)에 의하여 조절되는데 혈관신생 인자들이 혈관내피세포 수용체에 작용하여 혈관내피세포의 분열 및 이동을 자극함으로써 새로운 혈관이 형성된다.[14]

특히 VEGF는 종양에서 혈관의 형성에 관여하며 종양의 진행 및 전이에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있고, 암의 병기 및 분화도에 따라 발현이 증가되며 생존율과 높은 상관관계를 가지는 것으로 알려져 있다. 세포면역검사를 통한 VEGF의 예후 인자로서의 가치는 여러 연구에서 뒷받침하고 있다. 국내 연구에 의하면 Kim 등[15]은 투명 신세포암 조직에서 대조군에 비해서 VEGF의 발현이 높았고 병기와 유의한 상관관계를 보이며, Ha 등[16]도 VEGF의 발현이 신세포암 조직에서 높았으며 병기와 세포 분화도와 높은 상관관계를 보인다고 하였다. 또한 Takahashi 등[5]은 신세포암 조직에서 VEGF mRNA 발현이 정상조직보다 3-13배 높다고 보고하였다.

따라서 VEGF가 신세포암의 예후인자로서의 가치가 있을 것으로 생각되며 본 연구에서는 환자에 대한 접근도 및 추적 관찰이 용이한 혈청 VEGF 수치가 예후 인자로서의 가치가 있는지를 병기, 종양 조직형태, 세포 분화도, 생존율 등의 비교분석을 통하여 알아보았다.

혈청 VEGF 수치의 예후 인자로서의 가치에 대해서는 많은 연구가 이루어지지는 않은 상태이며 현재까지 일치된 견해가 없다. Jacobsen 등[17]은 혈청 VEGF 수치가 임상적 병기 (p=0.001), 조직분화도 (p=0.0004), 혈관 침범정도 (p=0.014)와 높은 상관관계를 보였고 단변량 분석에서 예후와 높은 연관성을 보였으나 (p=0.0001) 다변량 분석에서는 연관성을 보이지 않았다고 하였다 (p=0.4599). Sato 등[18]은 혈청 VEGF 수치가 신정맥 침범정도 ($p<0.01$), 종양 크기 ($p<0.0001$), 전이여부 ($p<0.001$)와 높은 연관성을 보인다고 하였으며 Schips 등[19]은 혈청 VEGF 수치가 신세포암 환자군에서 대조군에 비하여 유의하게 높았으나 (p=0.0001) 다변량 분석에서 병기 (p=0.051), 조직분화도 (p=0.281), 종양 크기 (p=0.918)와는 상관관계가 낮았다고 하였다.

본 연구 결과에서는 혈청 VEGF 수치가 종양의 크기, T 병기, 세포 분화도, 임상 병기 등 나이를 제외한 모든 예후인자와 유의한 연관성을 보였다. 사후 검정에서 T 병기는 T1과 T2에서는 유의한 차이를 보였으나 T3 이상의 병기에서는 차이를 보이지 않았는데 이는 상관분석에서 종양 크기와 VEGF 수치가 높은 상관관계를 보인 데서 알 수 있듯이 신주변 조직이나 혈관 침범정도보다는 종양 크기가 VEGF와 더 높은 연관성을 가진다고 해석할 수 있다. 그리고 사후 검정에서 임상 병기는 3병기와 4병기 간의 VEGF 수치 차이가 두드러졌으며 특히 4병기의 VEGF 평균치가 1,032pg/ml로서 본 연구에서 분석한 모든 변량에서의 VEGF 수치 중 통계적으로 가장 높았는데 p=전이 여부가 VEGF 수치에 상당한 영향을 미친다고 볼 수 있다.

생존율 분석에서는 단변량 및 다변량 분석 모두 VEGF 수치가 높았던 군과 낮았던 군에서 유의한 생존율 차이를 보여 단독으로 예후를 판단하는 예측인자로서의 가치가 있는 것으로 생각한다.

방사선학적, 조직학적 관점에서 보면 투명세포형 신세포암은 고혈관성 (hypervascular) 종양이며 유두상 및 혐색소성 신세포암은 비교적 저혈관성 (hypovascular) 종양으로 알려져 있다.[20-22] 이에 본 연구는 신혈관생성인자인 VEGF의 발현이 이들 간에 차이가 있는지 분석한 결과, VEGF 측정치가 투명세포형 신세포암군이 유두상 및 혐색소성 신세포암군에 비해 높게 나왔으나 통계적으로 유의한 차이는 없었는데, 이는 Schips 등[19]의 각 세포조직형별 혈청 VEGF 수치가 차이가 없다고 한 연구결과와 일치한다.

이상으로 혈청 VEGF는 조직 및 임상 병기와 세포분화도에 상당하는 예후 인자로서의 가치가 있는 것으로 판단된다. 그러나 검사 수치의 범위가 넓고 (9-3,000pg/ml) 연구마다 VEGF의 면역분석 방법 및 분석 기계에 따른 측정치의 통일이 이루어지지 않은 점 등에서 제한점이 있으며 향후 대규모의 다기관 연구를 통한 보정이 이루어져야 할 것으로 보인다.

마지막으로 최근 신혈관생성을 억제하는 항암제가 국내외적으로 시판이 되었고 앞으로 진행성 및 불응성 신세포암에서의 투여가 상당 부분 증가할 것으로 예상되는데, 이들 항암제의 약리작용을 고려해 볼 때 치료중인 진행성 신세포암 환자에서 혈청 VEGF 수치의 추적 검사는 환자의 치료 경과 및 예후 판정에 잠정적으로 효용성이 있을 것으로 예상되며 장기 추적을 통한 임상 경과 및 예후와의 연관성 분석은 연구 가치가 높을 것으로 생각한다.

결 론

본 연구 결과, 신세포암에서 혈청 VEGF 수치는 병기, 조직분화도 등 현재까지의 가장 강력한 예후 인자에 상당하는 가치가 있는 것으로 보이며, 아울러 혈청 검사로서 접근이 용이하고 반복적인 추적 검사가 가능한 점 등에서 유용성이 높다고 생각한다. 향후 혈청 VEGF의 분석 방법 및 측정치 표준화를 위한 다기관 연구가 필요하다.

REFERENCES

1. Golimbu M, Joshi P, Sperber A, Tessler A, Al-Askari S, Morales P. Renal cell carcinoma: survival and prognostic factors. Urology 1986;27:291-301
2. Farber E. The multistep nature of cancer development. Cancer Res 1984;44:4217-23
3. Rini BI, Rathmell WK. Biological aspects and binding strategies of vascular endothelial growth factor in renal cell carcinoma. Clin Cancer Res 2007;13:741s-6
4. Delahunt B. Histopathologic prognostic indicators for renal cell carcinoma. Semin Diagn Pathol 1998;15:68-76
5. Takahashi A, Sasaki H, Kim SJ, Tobisu K, Kakizoe T, Tsukamoto T, et al. Markedly increased amounts of messenger RNAs for vascular endothelial growth factor and placenta growth in renal cell carcinoma associated with angiogenesis. Cancer Res 1994;54:4233-7
6. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. N Engl J Med 1991;324:1-8
7. 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
8. Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. Nature 1989;339:58-61
9. Nicol D, Hii SI, Walsh M, Teh B, Thompson L, Kennett C, et al. Vascular endothelial growth factor expression is increased in renal cell carcinoma. J Urol 1997;157:1482-6
10. Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. Am J Surg Pathol 1982;6:655-63
11. Zambrano NR, Lubensky IA, Merino MJ, Linehan WM, Walther MM. Histopathology and molecular genetics of renal tumors: toward unification of a classification system. J Urol 1999;162:1246-58
12. Skinner DG, Colvin RB, Vermillion CD, Pfister RC, Leadbetter WF. Diagnosis and management of renal cell carcinoma. A clinical and pathologic study 0f 309 cases. Cancer 1971;28:1165-77
13. Patard JJ, Leray E, Cindolo L, Ficarra V, Rodriguez A, De La Taillle A, et al. Multi-institutional validation of a symptom based classification for renal cell carcinoma. J Urol 2004;172:858-62
14. Bouck N, Stellmach V, Hsu SC. How tumors become angiogenic. Adv Cancer Res 1996;69:135-74
15. Kim JN, Song KH, Song JM. Expression of vascular endothelial growth factor and its clinical significance with neovascularization in conventional renal cell carcinoma. Korean J Urol 2002;43:353-9
16. Ha HK, Ye JW, Lee SD, Chung MK. The relationship between expression of hypoxia inducible factor-1a or vascular endothelial growth factor and histopathologic characteristics in human ranal cell carninoma. Korean J Urol 2004;45:303-8
17. Jacobsen J, Rasmuson T, Grankvist K, Ljungberg B. Vascular endothelial growth factor as prognostic factor in renal cell carcinoma. J Urol 2000;163:343-7
18. Sato K, Tsuchiya N, Sasaki R, Shimoda N, Satoh S, Ogawa O, et al. Increased serum levels of vascular endothelial growth factor in patients with renal cell carcinoma. Jpn J Cancer Res 1999;90:874-9
19. Schips L, Dalpiaz O, Lipsky K, Langner C, Rehak P, Puerstner P, et al. Serum levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and endostatin in renal cell carcinoma patients compared to a control group. Eur Urol 2007;51:168-74
20. Zhang J, Lefkowitz RA, Ishill NM, Wang L, Moskowitz CS, Russo P, et al. Solid renal cortical tumors: differentiation with CT. Radiology 2007;244:494-504
21. Douglas ML, Richardson MM, Nicol DL. Endothelin axis expression is markedly different in the two main subtypes of renal cell carcinoma. Cancer 2004;100:2118-24
22. Beecken WD, Bentas W, Glienke W, Winneweber J, Jonas D, Binder J, et al. Serum angiogenic activity: diagnostic relevance in renal cell carcinoma. Eur Urol 2002;42:364-9