

자궁경부 편평상피성 종양에서 CD44 변이형 발현, 미세혈관밀도, VEGF 발현과 HPV 16/18 감염과의 연관성

대동병원 산부인과, 인제대학교 부산백병원 해부병리과,¹ 부산백병원 산부인과²
이정형 · 윤혜경¹ · 김현찬²

=Abstract=

Correlation between CD44 Variants Expression, Microvessel Density and VEGF Expression and HPV 16/18 Subtypes in Squamous Neoplasia of the Uterine Cervix

Jeung-Hyung Lee, M.D., Hye-Kyoung Yoon, M.D.,¹ and Hyun-Chan Kim, M.D.²
*Dept. of Obstetrics & Gynecology, Pusan Dae-Dong Hospital, Dept. of Anatomic Pathology, Pusan Paik
Hospital,¹ Dept. of Obstetrics and Gynecology, Pusan Paik Hospital, Inje University²*

Objective: In the development of squamous neoplasia of the uterine cervix, high risk HPV infection has been followed by CD44 variant expression and angiogenesis. The aim of this study is to evaluate the sequential changes and relationship of CD44 variant expression, microvessel density (MVD), and VEGF expression in CIN III, microinvasive (MI) and invasive (CA) squamous cell carcinoma.

Methods: The materials were 17 cases of CIN III, 14 cases of MI and 15 cases of CA. In situ PCR for HPV 16/18 and immunohistochemical studies for CD44std, v6, v7/8, CD 31 for MVD, and VEGF were performed.

Results: CD44std expression was decreased in squamous neoplasia compared to normal, and CD44v6 and v7/8 expressions were increased, however, there was no statistical significance. Accentuated staining of CD44v6 and v7/8 along the infiltrating borders was noted in 76.9% and 69.2% of MI and in 71.4% and 42.9% of CA, respectively. High MVD and VEGF 2+ expression were higher in the squamous neoplasia compared to normal, however, there was no significant difference between the squamous neoplasia and no significant relationship between MVD and VEGF expression. The expression rates of CD44std and CD44v6 were higher in HPV 16/18 negative squamous neoplasia and that of CD44v7/8 was higher in HPV 16/18 positive squamous neoplasia, however, their differences were not significant. The incidences of high MVD and VEGF 2+ expression were higher in HPV 16/18 positive squamous neoplasia with no statistical significance.

Conclusions: These results suggest that CD44 variants expression and angiogenesis are involved in the development of squamous neoplasia of the uterine cervix, however, HPV 16/18 might not be related to CD44 variant expression and angiogenesis.

Key words: CD44, Microvessel density, VEGF, HPV, Squamous neoplasia, Cervix

책임저자 : 김현찬

서론

악성 종양세포는 세포간 접착력은 감소되어 주위 세포나 기저막으로부터 쉽게 락되며, 또한 세포의 기질과 유착성이 증가하여 기질내 침윤, 혈관 침윤, 전이가 용이하게 된다.¹ 세포 표면 부착 분자들 중의 하나인 CD44 유전자는 11번 염색체 위치하며 20 exons으로 구성되어 있고,² 그 중 6-15 exon 사이의 10개 exon이 alternative splicing에 의해 다양한 변이형이 형성되나 이 변이형의 기능, 특히 종양의 성장에 어떻게 관여하는지 알려져 있지 않다.^{3,4} 그러나 유방암, 결직장암, 자궁내막암중, 위장관 림프종등에서 CD44 유전자의 돌연변이가 종양의 침윤성 성장, 전이 및 나쁜 예후와 연관성이 있다고 보고되어 있다.^{5,6} 실험적으로 CD44 변이형에 대한 항체를 주입한 경우 전이가 방지되므로 이 변이형이 종양세포의 전이능 획득에 중요할 것이라고 하였다.^{7,8} Dall 등은 자궁 경부의 침윤성 암종의 반 수가 CD44 변이형을 발현하였으며, 모두 전이가 있는 경우이므로 CD44 변이형의 발현은 암화과정 중 선택적으로 전이능을 지님을 시사한다고 하였다.⁹ 그러나 다른 보고들에서는 CD44 변이형 발현이 정상 점막과 편평상피성 종양에서 유의한 차이가 없었으며, 편평상피성 종양 거의 모든 예에서 발현되므로 유용한 표지자로 보기 어렵다고 하였다.^{10,11}

고형성 종양의 성장과 전이에 있어서 혈관신생은 중요하며, 혈관신생을 나타내는 미세혈관밀도가 유방, 난소, 폐 등 여러 장기의 악성 종양에서 독립적인 예후 예측인자라고 알려져 있다.¹²⁻¹⁴ 자궁경부 편평상피성 종양에 있어서 CIN 등급이 증가하여 암종으로 진행하면 미세혈관밀도가 증가한다고 알려져 있다.^{15,16} Dobbs 등은 혈관신생은 자궁경부암 발달 과정 중 초기 변화이고, VEGF 발현의 증가가 일부 관여할 것으로 추정된다고 하였다.¹⁷ 또한 Guidi 등도 침윤성 암종과 고등급 편평상피내 병변에서 높은 미세혈관밀도를 보였으며, VEGF mRNA 발현과 잘 부합하므로 VEGF가 자궁 경부 종양에서 중요한 혈관신생 성장인자라고 하였으며, VEGF 발현과 종양의 악성도와 연관성도 보고되어 있다.^{18,19}

자궁경부의 편평상피성 종양에서 HPV가 중요한 발암원인으로 알려져 있으나 종양 발달과정에서의

역할은 매우 복잡하여 아직 완전히 밝혀져 있지 않다. Dall 등은 고위험성 HPV 감염이 선행되고, CD44v7/8 발현의 증가가 나타나 암종 변화의 과정을 거친다고 하였다.²⁰ 그러나 Dellas 등은 편평상피성 종양이 발전함에 따라 CD44s와 v4 발현이 의의 있는 감소를 보였으나 HPV 상태와는 무관하였다고 보고하였다.²¹ HPV와 연관된 종양 발생과정 중 혈관신생이 나타나며, 암종으로 진행할수록 미세혈관밀도가 증가하나 HPV 발현과는 무관하다고 하였으며, 혈관신생과 HPV 유형과는 연관성이 없다고 보고도 있다.^{16,22,23}

본 연구는 자궁 경부의 CIN III, 미세침윤성 및 침윤성 암종에서 편평상피성 종양 발생에 관여하는 HPV 16/18 발현과 CD44std, v6, v7/8의 발현부위와 양상을 조사하고, CD31를 이용하여 미세혈관밀도를 산정하고, 혈관신생 성장인자인 VEGF 발현의 연관성을 조사하여, 편평상피성 종양 발달에 따른 CD44 변이형들의 발현, 미세혈관밀도, VEGF 발현의 차이를 알아보고, HPV 16/18 발현과 CD44 변이형, 미세혈관밀도, VEGF 발현간 상호 연관성을 알아보고자 하였다.

연구 대상 및 방법

1. 연구대상

최근 2년간 부산백병원 산부인과에서 자궁경부 편평상피성 종양으로 진단되어 전자궁적출술 및 원추절제술을 받은 CIN III 17예, 미세침윤성 암종 14예, 침윤성 암종 15예를 대상으로 연구하였다.

2. 연구방법

1) 면역조직화학검사

파라핀 블록을 4-5 μ m 두께로 박절하여 organic silane이 미리 처리된 슬라이드에 올린 다음 60℃의 열판에 24시간 동안 두어 부착시킨 후 xylene과 알콜로 탈파라핀 및 함수 과정을 거쳤다. 포르말린 고정으로 인하여 조직내 감추어진 항원을 노출시키기 위하여 10 mmol/l 의 citric acid buffer (pH 6.0) 용액에 담구어 microwave oven을 이용하여 10분간 가열한 후 30분간 실온에 두었다. 내인성 peroxidase의 차단을 위해 3% 과산화수소로 15분간 처리하고 중

류수로 수세하였다. 그후의 과정은 DAKO사의 labeled streptavidine biotin (LSAB) kit를 이용하여 시행하였다. 15분간 normal goat serum을 처리한 후 일차항체인 CD44 std, v6, v7/8 (Bender Medsystems, Austria), CD 31 (DAKO, Glostrup, Denmark), VEGF (Santa Cruz, Santa cruz, US)을 1:100, 1:40, 1:20, 1:40, 1:100으로 희석하여 실온에서 60분간 반응시켰으며 phosphate-buffered saline (PBS)로 수세하였다. 이차항체인 biotinylated anti-rabbit, anti-mouse immunoglobulin을 처리하여 실온에서 30분간 둔 후 PBS로 수세하고 peroxidase-conjugated streptavidine을 실온에서 30분간 반응시킨 후 PBS로 수세하고 DAB / AEC(3-amino-9-ethylcarbazole)로 10-20분간 실온에서 발색시켰다. 대조 염색은 Mayer's hematoxlyn으로 하였으며 Crystal mount로 봉입하였다.

2) 면역조직화학검사의 판독

CD44 std, v6, v7/8에 대한 면역조직화학염색 소견은 발현을 보이는 부위, 양상, 침윤성 성장 부위에서의 발현정도의 차이를 중심으로 판독하였다. CD31에 대한 면역조직화학염색에서 종양주변을 따라 가장 혈관이 밀집된 세 부위를 택하여 200배 시야에서 혈관수의 평균치를 구하였으며, 크게 정도 (30 미만), 중등도 (30-60 미만), 고도 (60 이상)로 구분하였다. VEGF 발현은 염색강도에 따라 1-3점, 양성 세포의 수에 따라 0점 (음성), 1점 (10% 이하만), 2점 (11% 이상 50% 이하), 3점 (51% 이상)으로 매긴 다음 합한 점수가 4점 미만이면 1+, 5점 이상이면 2+로 반정량적으로 판독하였다.

총 46예 중 31예에서 관찰되는 종양 조직 주변의 정상 편평상피를 내부 대조군으로 하였으며, 정상 편평상피의 면역염색 소견을 동일한 방법으로 판독하였다.

3) HPV 16/ 18에 대한 in situ PCR법

파라핀 블록에서 얻어진 4-5 μ m 두께의 조직 절편을 슬라이드에 부착시킨 후 H&E 소견상 병변을 포함한 직경 5mm 부위 만을 남기고 나머지 조직절편을 제거한다. 그후 슬라이드를 60 $^{\circ}$ C의 열판에 24시간 동안 두어 부착시킨 후 xylene과 알콜로 탈파라

핀 및 합수 과정을 거쳤다. PBS로 5분간 수세한 다음 0.02M HCl에서 10분, 3% H₂O₂에서 10분간, 0.01% Triton X100 용액에서 10초간 반응시킨다. 다시 PBS 용액으로 5분간 2회 수세한 다음 50 ug/ml proteinase K로 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 처리한다. 2 Ug/ml Glycine/PBS로 5분간 처리한 다음 endogenous alkaline phosphatase를 제거하기 위하여 차가운 20% 초산으로 15초간 처리한다. PBS용액으로 5분간 두 차례 수세한 다음 공기 중에서 건조시킨다.

In situ PCR 법을 위하여 TaKaRa PCR Human Papillomavirus Typing Set를 이용하였으며, 10x PCR Buffer 10 μ l, Mgcl (25 mM) 20 μ l, dNTPs 16 μ l, 1 mM biotin -16-dUTP 4 μ l, primer (20 p/ μ l) Forward 5 μ l 및 Reverse 5 μ l, Taq (2u) (TaKaRa ex Taq) 2 μ l를 증류수에 넣어 혼합한 용액이 100 μ l 되도록 혼합한다. HPV E6를 포함한 140 bp의 영역을 증폭하기 위한 primer 배열은 다음과 같다.

HPVpF : 5'-TGTCAAAAACCGTTGTGTCC-3'

HPVp16R : 5'-GAGCTGTCGCTTAATTGCTC-3'

슬라이드 위에 혼합액을 분주한 다음 TaKaRa slide seal for in situ PCR 이용하고, In situ PCR thermal cycle은 predenaturation 과정으로 94 $^{\circ}$ C 5분간, denaturation 94 $^{\circ}$ C 45초간, annealing 55 $^{\circ}$ C 1분 30초, extension 72 $^{\circ}$ C 1분간 하였으며, 이 cycle을 35회 실시하였고, postextension과정을 72 $^{\circ}$ C 5-10분간 실시한 후 4 $^{\circ}$ C에 둔다. 이후 streptoavidin Ab solution (DAKO, US)을 슬라이드에 분주한 후 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시킨 다음 PBS로 5분간 2회 수세하고, 발색을 위해 AEC를 사용하였으며, 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시켰다. Mayer's hematoxylin으로 10초간 대조 염색한 후 수용성 봉입제로 봉입하고 광학현미경으로 검경하여 양성 여부를 판독하였다.

3. 통계 분석

CIN III, 미세침윤성 및 침윤성 암종에 있어서 CD44 변이형의 발현율과 발현 양상, 미세혈관밀도, VEGF 발현의 차이를 비교하고, HPV 16/18 발현과 CD44 변이형의 발현율과 발현 양상, 미세혈관밀도 및 VEGF 발현 상호간의 연관성을 SAS 프로그램으로 분석하였으며, chi-square 혹은 Fisher's exact

T-test를 적용하여 얻은 p값이 0.05 이하인 경우 유의하다고 판정하였다.

결 과

1. CD44 변이형의 발현

자궁경부의 정상 편평상피에서는 CD44std, v6, v7/8 모두 상피의 기저부를 따라 국소적 발현을 보였다. CIN III, 미세침윤성 및 침윤성 암종에서는 정상 편평상피에 비해 CD44std, v6, v7/8 모두 현저한 발현을 보였다. CIN III의 CD44std, v6, v7/8의 발현율은 23.5%, 76.5%, 88.2%로서 CD44std에 비해 v6, v7/8 발현이 많았다. 미세침윤성 암종의 CD44std, v6, v7/8 발현율은 모두 92.9%로 나타났으며, 침윤성 암종에서는 40.0%, 93.3%, 93.3%이었다. 편평상피성 종양 등급에 따라 살펴보면 CD44std 발현율은 CIN III에 비해 미세침윤성 암종이 되면 증가하였고, 침윤성 암종에서 오히려 감소하였으며, CD44v6와 v7/8 발현율은 CIN III보다 미세침윤성 및 침윤성 암종에서 약간 증가하였으나 통계학적으로 유의한 차이는 아니었다. ($p=0.328$, $p=0.851$) (Table 1)

CIN III에서는 부위에 따른 발현 강도의 차이를 관찰하기 어려웠으나 미세침윤성 및 침윤성 암종에서는 침윤성 성장 부위를 따라 CD44 변이형 발현이 상대적으로 강하였다. 그러나 CD44 변이형에 따른 차이를 보여 CD44std의 경우 미세침윤성 암종의 61.5%, 침윤성 암종 16.7%에서, CD44v7/8은 미세침윤성 암종 69.2%, 침윤성 암종 42.9%에서 발현 증가

양상이 관찰되어 CD44 std와 v7/8의 경우 미세침윤성 암종에서 자주 관찰되나 침윤성 암종에서 감소하는 경향을 보인 반면 CD44v6는 미세침윤성 암종 76.9%, 침윤성 암종 71.4%로 비슷하였다. (Table 1, Fig. 1)

2. 미세혈관밀도 및 VEGF 발현

1) 미세혈관밀도

편평상피성 종양 46예의 미세혈관밀도 평균치는 44.1로서 정상 편평상피의 14.3보다 현저히 높았다. 편평상피성 종양 등급별로 살펴보면 CIN III의 평균

Fig. 1. CD44v6 and v7/8 expressions. Accentuated expression for v6 along the infiltrating borders (A), but relatively even reaction for v7/8 (B) in microinvasive squamous cell carcinoma.

Table 1. CD44 variants expression and accentuation rate in CIN III, microinvasive and invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix

		CIN III	MI	CA	p-value
No. of cases		17	14	15	
CD44std	Positive (%)	4 (23.5)	13 (92.9)	6 (40.0)	0.001
	Accentuation (%)	-	8 (61.5)	1 (16.7)	
CD44v6	Positive (%)	13 (76.5)	13 (92.9)	14 (93.3)	0.328
	Accentuation (%)	-	10 (76.9)	10 (71.4)	
CD44v7/8	Positive (%)	15 (88.2)	13 (92.9)	14 (93.3)	0.851
	Accentuation (%)	-	9 (69.2)	6 (42.9)	

CIN, cervical intraepithelial neoplasia;

MI, microinvasive squamous cell carcinoma;

CA, invasive squamous cell carcinoma

치는 43.1, 미세침윤성 암종 45.2, 침윤성 암종 44.1로 미세침윤성 암종에서 가장 높았으나 유의있는 차이는 아니었다. 미세혈관밀도가 60 이상, 즉 고도 미세혈관밀도를 보인 빈도는 미세침윤성 암종의 경우 28.6%로서 CIN III의 17.6%, 침윤성 암종의 20.0%보다 많았으나 통계학적으로 유의한 차이는 아니었다. ($p=0.938$) (Table 2, Fig. 2)

2) VEGF 발현

정상 편평상피에서는 발현이 관찰되지 않았으며, 편평상피성 종양 46례 중 38례 (82.6%)에서 양성이었다. 편평상피성 종양 등급별로 VEGF 2+인 빈도를 살펴보면 CIN III 35.3%, 미세침윤성 암종 42.9%,

침윤성 암종 46.7%로서 침윤성 암종에서 가장 높았으나 유의한 차이는 아니었다. ($p=0.743$) (Table 2)

3) 미세혈관밀도와 VEGF 발현의 연관성

VEGF 발현 1+인 경우 고도 미세혈관밀도를 보인 빈도는 26.3%, VEGF 발현 2+인 경우 21.1%이며, VEGF 발현 양성인 경우 VEGF 음성인 경우의 12.5%보다 높았으나 유의한 차이는 아니었다. ($p=0.948$) (Table 3, Fig. 3)

3. HPV in situ PCR 소견과 CD44 발현, 미세혈관밀도 및 VEGF 발현과의 연관성
전체 46예 중 32예 (69.6%)에서 HPV 16/18 양성

Fig. 2. Immunostaining for CD31. Mildly increased vascularity in CIN III lesion (A), and markedly increased microvessel density in microinvasive squamous cell carcinoma (B).

Fig. 3. Inconspicuous vascularity around the tumor cell clusters on CD31 immunostain (A), but 2+ reaction for VEGF (B) in same case of invasive squamous cell carcinoma.

Table 2. Microvessel density and VEGF expression in CIN III, microinvasive and invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix

Diagnosis	No. of cases	Microvessel density ^a				VEGF expression ^b		
		Mean	Low	Moderate	High (%)	-	1+	2+ (%)
CIN III	17	43.1	4	10	3 (17.6)	4	7	6 (35.3)
MI	14	45.2	2	8	4 (28.6)	3	5	6 (42.9)
CA	15	44.1	3	9	3 (20.0)	1	7	7 (46.7)
Total(%)	46	44.1	9(19.6)	27(58.7)	10(21.7)	8(17.4)	19(41.3)	19(41.3)

Low, less than 30 vessels; Moderate, 30 to 60 vessels; High, more than 60 vessels per x200 field

a, p-value: 0.938; b, p-value: 0.743

- 자궁경부 편평상피성 종양에서 CD44 변이형 발현, 미세혈관밀도, VEGF 발현과 HPV 16/18 감염과의 연관성 -

Table 3. Correlation between microvessel density and VEGF expression in squamous neoplasia of the uterine cervix

Microvessel density	VEGF expression*			Total
	Negative	1+	2+	
Low	2	4	3	9
Moderate	5	10	12	27
High (%)	1 (12.5)	5 (26.3)	4 (21.1)	10
Total	8	19	19	46

*p-value: 0.948

이었으며 (Fig. 4), CIN III 17예 중 13예 (76.5%), 미세침윤성 암종은 14예 중 10예 (71.4%), 침윤성 암종은 15예 중 9예 (60.0%) 가 HPV 16/18 양성으로서 편평상피성 종양의 등급이 높을수록 HPV 16/18 발현은 약간 감소하였으나 유의한 차이는 아니었다. ($p=0.6650$)

1) CD44 변이형 발현과 HPV 16/18 발현과의 연관성

CIN III에서 HPV 16/18 발현에 따른 CD44std 발현율의 차이가 없었으며, CD44v6 발현율은 HPV 16/18 음성인 경우 높았고, CD44v7/8 발현율은 HPV 16/18 양성인 경우 약간 높았다. 미세침윤성 암종에서 CD44std 발현은 HPV 16/18 음성군에서, CD44v6와 CD44v7/8 발현은 HPV 16/18 양성군에서 조금 높았다. 침윤성 암종에서 CD44std 발현율은 HPV 16/18 음성인 경우 약간 높았고, CD44v6 발현율은 HPV 음성인 경우, CD44v7/8 발현율은 HPV 16/18 양성인 경우 조금 높았다. 편평상피성 종양 46예에서 CD44std 발현율은 HPV 16/18 음성인 경우 57.1%, 양성인 경우 46.9%로서 음성인 경우 약간 높았고 ($p=0.200$), CD44v6 발현율은 HPV 16/18 음성인 경우 92.9%, 양성인 경우 90.6%로서 비슷하였고 ($p=0.244$), CD44v7/8 발현율은 HPV 16/18 음성인 경우 78.6%, 양성인 경우 96.9%로서 HPV 16/18 양성인 경우 다소 높았으나 통계학적 유의성은 없었다. ($p=0.078$) (Table 4) 편평상피성 종양 등급별로 CD44 변이형 및 HPV 16/18 발현 유무와의 연관성을 살펴보면 CD44std 발현율은 CIN III, 미세침윤성 암종, 침윤성 암종 모두 HPV 16/18 음성인 경우 조금 높았으나 차이가 현저하지 않았다. 그러나 CD44v6 발

Fig. 4. In situ PCR for HPV 16/18. Positive nuclear signals observed in CIN III lesion.

현율은 CIN III와 침윤성 암종에서는 HPV 16/18 음성인 경우, 미세침윤성 암종에서는 HPV 16/18 양성인 경우 높았으나 유의한 차이는 없었다. CD44v7/8 발현율은 CIN III, 미세침윤성 암종, 침윤성 암종 모두 HPV 16/18 양성인 경우 조금 높았으나 현저하지 않았다. (Table 4)

2) HPV 16/18 발현과 미세혈관밀도와의 연관성
편평상피성 종양 46예 중 HPV 16/18 음성인 14예 중 1예 (7.1%), HPV 16/18 양성인 32예 중 9예 (28.1%)에서 고도 미세혈관밀도를 보여 HPV 16/18 양성인 경우 고도 미세혈관밀도를 보인 경우가 많았으나 통계학적 유의성은 없었다. ($p=0.162$) CIN III와 미세침윤성 암종의 경우 HPV 16/18 양성인 경우 고도 미세혈관밀도를 보인 빈도가 높았으나 침

윤성 암종에서는 HPV 16/18 양성인 경우 22.2%, HPV 16/18 음성인 경우 16.7%가 고도 미세혈관밀도를 보여 HPV 16/18 발현에 따른 고도 미세혈관밀도를 보인 빈도의 차이가 거의 없었다. (Table 5)

3) HPV 16/18 발현과 VEGF 발현과의 연관성

편평상피성 종양 46예 중 HPV 16/18 양성인 32예 중 14예 (43.8%), 음성인 14예 중 5예 (35.7%)에서 VEGF 2+ 발현을 보여 HPV 16/18 양성인 경우 2+ 발현의 빈도가 조금 높았으나 유의한 차이는 없었다. ($p=0.274$) 편평상피성 종양 등급별로 살펴보면 CIN III은 HPV 16/18 양성인 13예 중 5예 (38.5%)가 2+ 반응을 보인 반면 HPV 16/18 음성인 4예 중 1예가 2+ (25.0%) 반응을 보여 HPV 16/18 양성인 경우 VEGF 2+ 빈도가 약간 높았고, 미세침윤성 암종에

서 HPV 16/18 양성인 0예 중 4예 (40.0%)가 2+, HPV 16/18 음성인 4예 중 2예가 2+ (50.0%)를 보여 HPV 16/18 음성인 경우 2+의 빈도가 조금 많았으며, 침윤성 암종에서는 HPV 16/18 양성인 9예 중 5예 (55.6%)가 2+, HPV 16/18 음성인 6예 중 2예가 2+ (33.3%)로서 HPV 16/18 양성인 경우 VEGF 2+ 발현을 보인 경우가 많았으나 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. (Table 5)

고 찰

악성 종양에서 세포표면 접착분자의 하나인 CD44 유전자의 돌연변이로 CD44 전사에 이상이 생겨 CD44 변이형의 발현이 나타난다.²⁴ Dall 등은

Table 4. Correlation between HPV 16/18 expression and CD44 variants expressions in squamous neoplasia of the uterine cervix

Diagnosis HPV16/18 (No. of cases)	CIN III		MI		CA		Total*	
	Negative (4)	Positive (13)	Negative (4)	Positive (10)	Negative (6)	Positive (9)	Negative (14)	Positive (32)
CD44std-positive (%)	1(25.0)	3(23.1)	4(100.0)	9(90.0)	3(50.0)	3(33.3)	8(57.1)	15(46.9)
CD44v6-positive (%)	4(100.0)	9(69.2)	3(75.0)	10(100.0)	6(100.0)	8(88.9)	13(92.9)	29(90.6)
CD44v7/8-positive (%)	3(75.0)	13(100.0)	3(75.0)	10(100.0)	5(83.3)	9(100.0)	11(78.6)	31(96.9)

*p-value, 0.200 for CD44std; 0.244 for CD44v6; 0.078 for CD44v7/8

Table 5. Correlation between HPV 16/18 expression and microvessel density and VEGF expression in squamous neoplasia of the uterine cervix

Diagnosis (No. of cases)	MVD	HPV 16/18		VEGF	HPV 16/18	
		Neg (%)	Pos (%)		Neg (%)	Pos (%)
CIN III (17)	High	0 (0.0)	3 (23.1)	2+	1 (25.0)	5 (38.5)
	Moderate	3	7	1+	2	5
	Low	1	3	-	1	3
MI (14)	High	0 (0.0)	4 (40.0)	2+	2 (50.0)	4 (40.0)
	Moderate	4	3	1+	1	4
	Low	0	3	-	1	2
CA (15)	High	1 (16.7)	2 (22.2)	2+	2 (33.3)	5 (55.6)
	Moderate	4	5	1+	4	3
	Low	1	2	-	0	1
Total* (46)	High	1 (7.1)	9 (28.1)	2+	5 (35.7)	14 (43.8)
	Moderate	11	15	1+	7	12
	Low	2	8	-	2	6

MVD, microvessel density; Neg, negative; Pos, positive

* p-value: 0.162 for microvessel density; 0.274 for VEGF

v7/8 발현이 정상 11예 중 1예에서 나타나고 편평상피성 병변이 진행될수록 발현빈도가 증가하여 암종 17예 모두 나타나므로 CD44v7/8 발현이 자궁 경부 편평상피성 종양의 발달에 관여하는 것으로 추정되므로 CD44v7/8 발현은 자궁 경부 편평상피암종의 진단에 유용한 표지자로서 CD44v7/8 epitope가 치료의 표적이 될 수 있다고 하였다.²⁰ Dellas 등은 경도 혹은 중등도 이형성증에 비해 고도 이형성증 및 상피내암종에서 CD44s와 v4 발현이 감소되며, v9 발현은 오히려 증가하였다고 보고하였다.²² Kainz 등은 자궁경부암종의 CD44v5, v6, v7/8 발현율이 93%, 73%, 33%라고 하였다.²⁵ 그러나 Woerner 등은 CD44 변이형 발현이 정상 편평상피의 분화에 따라서 다른 양상을 보이며, 침윤성 암종에서 v5, v6는 강하게 발현되나 v7, 8, 10은 발현되지 않고, std 발현은 감소하였으며 정상 점막, 상피내종양, 침윤성 및 전이성 암종에서 CD44 변이형 발현의 유의한 차이가 없다고 보고하였다.¹⁰ 또한 Ibrakim 등도 정상 및 CIN과 차이를 보이지 않고 거의 모든 예에서 CD44 변이형이 발현되므로 자궁경부의 종양 발달 혹은 전이능에 대한 유용한 표지자로 보기 어렵다고 보고하였다.¹¹

CD44 변이형 발현과 예후의 연관성에 대해 Kainz 등은 CD44v4/5의 발현율은 70%, v6는 67%로서 나쁜 예후와 연관성이 있으며, CD44v6 양성이며 전이가 있는 환자가 v6 음성인 환자보다 통계학적 유의성은 없으나 예후가 나쁘므로 CD44v6가 전이 과정에 중요한 역할을 한다고 하였다.^{25,26} 그러나 장 등은 병기 IB-IIIB 자궁경부암종에서 CD44v4/5, v6 발현율은 41.4%, 70.0%이었으며, 재발, 림프절 전이, 생존율과의 연관성은 없었다고 하였다.²⁷

본 연구에서는 CD44 std 발현은 편평상피성 종양에서 다소 낮았으며, CD44v6와 v7/8 발현은 CIN III 보다 미세침윤성 및 침윤성 암종에서 발현율이 약간 높아 다른 연구의 결과와 유사하였으나 통계학적으로 유의있는 차이는 아니었다.^{9,20,25,27} CIN III 이상 침윤성 암종으로 진행한 경우 CD44v6와 v7/8 발현은 증가한 것은 CD44v6와 v7/8이 침윤성 성장과 관련성이 있음을 시사하였다. 이러한 소견으로 CD44 변이형 발현이 자궁경부 편평상피성 종양 발달과정에 나타남을 알 수 있었으며, CD44 변이형의 발현이 종양의 침윤, 혈관 침범 및 전이를 용이하게

할 것으로 추정되었다.

김 등은 침윤성 암종 조직에서 침윤성 성장 부위에서 CD44std와 CD44v6의 강한 발현이 관찰된다고 보고하였다.²⁸ 그러나 본 연구에서는 CD44std의 경우 미세침윤성 암종은 61.5%, 침윤성암종 16.7%로서 침윤깊이가 증가할수록 점차로 감소하였으며, CD44v6는 미세침윤성 및 침윤성 암종 모두 비교적 높은 빈도를 보였고, CD44v7/8 발현의 증가가 미세 침윤성 암종에서는 자주 보이나 침윤성 암종에서는 v6보다 낮은 빈도를 보였다. 이러한 소견은 자궁경부 편평상피성 종양의 침윤성 성장, 즉 기질 침윤에 있어서 CD44v6와 v7/8이 관여하는 것을 의미하며, 침윤성 암종으로 진행한 후에 CD44v6 발현은 지속되나 v7/8 발현이 감소하는 것은 침윤성 성장에 있어 CD44v6는 지속적으로 영향을 미치는 반면 CD44std 및 v7/8의 영향은 점차 감소하는 것으로 추정되었다.

Dall 등은 CD44v7/8 발현과 HPV 16/18 발현과의 연관성을 살펴본 연구에서 CD44v7/8 양성인 32예 중 29예가 HPV 16 양성인 반면 v7/8 음성인 35예 중 17예가 HPV 16 양성이고, HPV 18은 2예의 침윤성 암종에서 관찰되는 점으로 미루어 고위형성 HPV 감염이 선행되고 CD44v7/8 발현의 증가가 나타나서 상피내암종이 되면 거의 전 예에서 CD44v7/8 발현이 나타난다고 하였다.²⁰ 그러나 Dellas 등은 편평상피성 종양이 발달함에 따라 CD44s와 v4 발현이 유의있는 감소를 보였으며, 이러한 CD44 변이형 발현이 조직학적 분화도와 연관 있으나 HPV 상태와는 무관하였다고 보고하였다.²² 본 연구에서 CD44std 및 CD44v6 발현율은 HPV 16/18 음성인 경우 양성에 비해 조금 높았고, CD44v7/8 발현은 HPV 16/18 양성인 경우 높았으며 CD44 변이형 발현과 HPV 16/18 발현 사이에 유의있는 차이는 없으므로 자궁경부 편평상피성 종양 발달에 있어서 HPV 16/18 발현과 CD44 변이형 발현과의 연관성이 없다고 생각되었다.

자궁경부에 이형성 변화가 있으면 혈관의 변화가 동반되며, 김 등은 경도, 중등도, 고도 이형성증의 미세혈관밀도의 평균이 각각 31.0, 34.3, 35.0이며, 상피내암종, 미세침윤성 암종 및 침윤성 암종은 41.4, 44.1, 42.6로 나와 침윤성 암종과 상피내종양 사이에 유의한 차이를 보이므로 혈관생성은 자궁경

부암종의 진행 및 침윤에 중요한 역할을 하는 것으로 추정된다고 하였다.²⁹ 안 등도 정상 편평상피의 미세혈관밀도가 19.7, 만성 자궁경부암은 33.5, 저등급 편평상피내 병변 38.8, 고등급 편평상피내 병변 67.0, 미세침윤성 암종 73.4, 침윤성 암종 경우 77.8로서 종양이 진행될수록 미세혈관밀도가 증가하므로 의미가 있다고 하였다.³⁰ Davidson 등 및 Smith-McCune 등도 정상보다 상피내종양에서 미세혈관밀도가 높으며 상피내 종양 등급이 증가할수록 미세혈관밀도도 증가하였다고 보고하였다.^{22,23} 그러나 Abulafia 등은 정상, 상피내암종, 미세침윤성 암종의 미세혈관밀도가 17.0, 19.0, 34.5로서 상피내암종에서는 혈관신생이 나타나지 않으나 미세침윤성 암종은 혈관신생이 관찰되는 병변이라고 하였으며, 침윤 깊이와 혈관신생 정도의 연관성은 없다고 하였다.³¹

미세혈관밀도의 예후인자로서의 의의에 대해 Bremer 등은 미세혈관밀도와 림프절 전이와 disease free survival과 연관성이 있다고 하였으며,³² Obermair 등은 병기 IB인 편평상피암종에서 미세혈관밀도, 종양의 크기, 림프절 전이, 방사선치료 등이 독립적 예후인자이나 혈관침윤이 유의한 인자는 아니라고 하였다.³³ Wiggins 등은 암종의 미세혈관밀도는 56, 대조군에서 16.3으로 차이를 보여 재발 및 예후 예측인자로 도움이 된다고 하였으며, 혈관 침윤과 연관성 보이지만 림프절 전이 여부, 자궁방 조직 침범, 침윤 깊이와 연관성은 없다고 하였다.³⁴ 그러나 Kainz 등은 자궁경부암 IB, IIA, IIB의 미세혈관밀도가 59.6, 56.3, 55.7로 나와 차이가 현저하지 않았으며, 림프절 전이, 혈관 침윤, 기질 반응과 연관성이 없다고 하였고, 오히려 미세혈관밀도가 낮은 경우에 혈류량이 적어 생존율이 감소한다고 하였다.^{35,36} 안 등은 정상 상피, 염증, 암종의 미세혈관밀도가 6.57, 10.93, 22.43으로 차이가 현저하지 않으며, 미세혈관밀도와 종양의 크기, 병기 등과 연관성이 없으므로 예후인자로서 의의가 없다고 하였다.³⁷ 이 등의 연구에서는 암종에서 양성 병변에 비해 현저히 높은 미세혈관밀도를 보이나 상피내암종, 미세침윤성 암종, 침윤성 암종간 차이가 없으며, 종양의 크기, 침윤 깊이, 조직학적 유형에 따른 차이도 없으므로 자궁경부암 발달 초기에 혈관신생이 나타나나 미세혈관밀도로서 예후나 전이를 예측하기 어

렵다고 하였다.³⁸

정상에서 상피내종양 및 침윤성 암종으로 진행함에 따라 미세혈관밀도와 VEGF 발현이 증가되므로 혈관신생은 자궁경부암 발달과정 중 초기 변화이고, VEGF 발현의 증가가 일부 관여할 것이라고 하였다.¹⁷ Guidi 등은 VEGF mRNA를 ISH법으로 측정한 결과 침윤성 암종과 고등급 편평상피내 병변에서 저등급 편평상피내 병변 및 양성 병변에 비해 높은 미세혈관밀도를 보였으며, VEGF mRNA 발현과 잘 부합하므로 VEGF가 자궁경부 종양에서 중요한 혈관신생 성장인자라고 하였다.¹⁸ 김 등은 VEGF 발현율이 고등급 편평상피내 병변의 경우 13.3%, 암종에서는 45.0%로 침윤성 암종에서 현저히 높으며, VEGF 양성인 경우 ki-67 표지지도 높아 VEGF 발현이 자궁암 세포의 증식 및 침습력과 연관성이 있다고 보고하였다.³⁹ 이 등의 연구에서는 상피내암종, 미세침윤성 암종, 침윤성 암종의 미세혈관밀도의 평균이 각각 25.33, 33.21, 39.97로 의미있는 증가를 보이며, VEGF 발현 역시 상피내암종, 미세침윤성 암종, 침윤성 암종 순으로 증가하므로 미세혈관밀도와 VEGF 발현의 상호연관성이 있으며, 림프절 전이 양성인 경우 VEGF 발현이 많다고 하였다.⁴⁰

본 연구에서는 자궁경부 편평상피성 종양에서 미세혈관밀도와 VEGF 발현이 정상에 비해 현저히 높아 종양 발달과정에 나타나는 것으로 생각되었으나 미세혈관밀도가 CIN III의 경우 43.1, 미세침윤성 암종 45.1, 침윤성 암종 44.1로 나왔으며, VEGF 발현이 CIN III에서는 76.5%, 미세침윤성 암종 78.6%, 침윤성 암종 93.3%로 나와 편평상피성 종양 침윤 정도에 따른 미세혈관밀도와 VEGF 발현이 유의한 차이를 보여주지 않아 침윤성 성장에 있어서 혈관신생의 역할을 추정할 수 없었다. 또한 미세혈관밀도와 VEGF 발현간 유의한 연관성도 나타나지 않아 편평상피성 종양에서 혈관신생에 VEGF의 다른 인자도 영향을 미치는 것으로 생각되었다.

K14-HPV16 transgenic mice에서 HPV 16 early gene이 기저층의 편평상피세포에서 발현됨과 동시에 실험동물과 인체의 초기 병변에서 혈관신생이 나타났으며, 이때 VEGF 발현도 증가되어 VEGF 발현에 의해 미세혈관구조의 변화가 초래된다고 하였다.¹⁶ 혈관신생은 편평상피성 종양 발생에 있어서 전암 단계에서 나타나며 인체와 transgenic mice에서

비슷한 기전에 의하는 것으로 추정되었다. 그러나 Davidson 등은 편평상피성 종양이 발달함에 따라 미세혈관밀도는 증가하나 HPV 존재 유무와 무관하다고 하였다.²² 본 연구에서도 편평상피성 종양 전체에서는 HPV 16/18 양성인 경우 고도 미세혈관밀도를 보인 빈도가 다소 높았으며, VEGF 2+ 발현의 빈도가 HPV 16/18 양성인 경우 조금 높았으나 유의있는 차이가 아니므로 HPV 16/18 발현과 혈관신생과의 연관성을 추정할 수 없었다.

결론

최근 2년간 부산백병원 산부인과에서 자궁경부 편평상피성 종양으로 진단되어 전자궁적출술 및 원추절제술을 받은 CIN III 17예, 미세침윤성 암종 14예, 침윤성 암종 15예를 대상으로 편평상피성 종양 발생에 관여하는 HPV 16/18 발현을 in situ PCR 법으로, 세포접착인자로서 종양의 생물학적 특성과 연관성이 있다고 알려진 CD44std, v6, v7/8의 발현부위와 양상을 면역조직화학적으로 조사하고, CD31에 대한 면역조직화학 염색으로 미세혈관밀도를 산정하고, 혈관신생 성장인자인 VEGF에 대한 면역염색을 실시하여 편평상피성 종양 발달에 따른 CD44 변이형들의 발현, 미세혈관밀도, VEGF 발현의 차이를 알아보고, HPV 16/18 발현과 CD44 변이형, 미세혈관밀도, VEGF 발현간 상호 연관성을 연구하여 다음의 결과를 얻었다.

1. 정상에 비해 편평상피성 종양에서 CD44std 발현율은 감소하였고 CD44v6와 v7/8발현은 증가하였으나 편평상피성 종양 등급에 따른 CD44 변이형 발현율의 유의한 차이는 없었다.

2. 침윤성 성장 부위에서 CD44 변이형 발현의 증가가 관찰되었으며, CD44v6는 미세침윤성 암종과 침윤성 암종 모두 높은 빈도를 보였으나 CD44 std, v7/8은 미세침윤성 암종에서는 높으나 침윤성암종은 낮은 빈도를 보였다.

3. 자궁경부 편평상피성 종양에서 미세혈관밀도와 VEGF 발현이 정상에 비해 현저히 높았으나 편평상피성 종양의 침윤 정도에 따른 차이가 없었으며, 미세혈관밀도와 VEGF 발현의 유의한 연관성은

나타나지 않았다.

4. CD44std 및 CD44v6 발현율은 HPV 16/18 음성인 경우 조금 높았고, CD44v7/8 발현은 HPV 16/18 양성인 경우 높았으나 유의있는 차이는 아니었다.

5. HPV 16/18 양성인 경우 음성인 경우에 비해 고도 미세혈관밀도와 VEGF 2+ 발현의 빈도가 다소 높았으나 통계학적 유의성은 없었다.

이상의 결과로 자궁경부 편평상피성 종양의 침윤성 성장에 있어서 CD44v6와 v7/8이 기질 침윤에 함께 관여하는 CD44v6는 지속적으로 영향을 미치는 반면 CD44std 및 v7/8의 영향은 점차 감소하는 것으로 생각되었다. 미세혈관밀도와 VEGF 발현이 정상에 비해 현저히 높아 자궁경부의 편평상피성 종양 발달과정에서 나타났으나 미세혈관밀도와 VEGF 발현의 유의한 연관성이 없으므로 혈관신생에 VEGF의 다른 인자도 관여하리라고 추정되었다. 또한 HPV 16/18 발현, CD44 변이형 발현과 혈관신생의 연관성이 없으므로 자궁경부 편평상피성 종양 발달 과정에 나타나는 CD44 변이형 발현과 혈관신생이 HPV 16/18과 직접적인 연관성은 없는 것으로 생각되었다.

- 참고문헌 -

1. Tanabe KK, Saya H. The CD44 adhesion molecule and metastasis. Crit Rev Oncol 1994; 5: 201-12.
2. Screaton GR, Bell MV, Jackson DG, Cornelis FB, Gerth U, Bell JI. Genomic structure of DNA encoding the lymphocyte homing receptor CD44 reveals at least 12 alternatively spliced exons. Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89: 12160-4.
3. Stauder R, Gunthert U. CD44 isoforms: Impact on lymphocyte activation and differentiation. Immunology 1995; 3: 78-83.
4. Fox SB, Gatter KC, Jackson DG, Screaton GR, Bell MV, Bell JI, et al. CD44 and cancer screening. Lancet 1993; 342: 548-49.
5. Mayer B, Jauch KW, Gunthert U, Figdor CG, Schildberg FW, Funke I, et al. De-novo expression of CD44 and survival in gastric cancer. Lancet 1993; 342: 1019-23.

6. Kaufmann M, Heider KH, Sinn HP, von Minckwitz G, Ponta H, Herrlich P. Surface expression on distinct CD44 variant exon epitopes on primary breast cancer strongly correlates with poor survival. *Lancet* 1995; 345: 615-9.
7. Seiter S, Arch R, Reber S, Komitowski D, Hofmann M, Ponta H, et al. Prevention of tumor metastasis formation by anti-variant CD44. *J Exp Med* 1993; 177: 443-55.
8. Guo Y, Ma J, Wang J, Che X, Narula J, Bigby M, et al. Inhibition of human melanoma growth and metastasis in vivo by anti CD44 monoclonal antibody. *Cancer Res* 1994; 54: 1561-5.
9. Dall P, Heider KH, Hekele A, von Minckwitz G, Kaufmann M, Ponta H, et al. Surface protein expression and messenger RNA-splicing analysis of CD44 in uterine cervical cancer and normal cervical epithelium. *Cancer Res* 1994; 54: 3337-41.
10. Woerner SM, Givehchain M, Durst M, Schneider A, Costa S, Melsheimer P, et al. Expression of CD44 splice variant in normal, dysplastic, and neoplastic cervical epithelium. *Clin Cancer Res* 1995; 1: 1125-32.
11. Ibrakim EM, Blackett AD, Tidy JA, Wells M. CD44 is a marker of endocervical neoplasia. *Int J Gynecol Pathol* 1999; 18: 101-8.
12. Bosari S, Lee AKC, Delellis RA, Wiley BD, Heatley GJ, Silverman ML. Microvessel quantitation and prognosis in invasive breast carcinoma. *Hum Pathol* 1992; 23: 755-61.
13. Hollingsworth Hc, Kohn EC, Steinberg SM, Rothenberg ML, Merino MJ. Tumor angiogenesis in advanced stage ovarian carcinoma. *Am J Pathol* 1995; 147: 33-41.
14. Macchiarini P, Fontanini G, Hardin MJ, Squartini F, Angeletti CA. Relation of neovascularization to metastasis on non-small-cell lung cancer. *Lancet* 1992; 340: 145-6.
15. Stafl A, Mattingly RF. Angiogenesis of cervical neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1975; 121: 845-52.
16. Smith-McCune K, Zhu YH, Hanahan D, Arbeit J. Cross-species comparison of angiogenesis during the premalignant stages of squamous carcinogenesis in human cervix and K14-HPV16 transgenic mice. *Cancer Res* 1997; 57: 1294-300.
17. Dobbs SP, Hewett PW, Johnson IR, Carmichael J, Murray JC. Angiogenesis is associated with vascular endothelial growth factor expression in cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer* 1997; 76: 1410-5.
18. Guidi AJ, Abu-Jaweh G, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Dvorak HF, et al. Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) expression and angiogenesis in cervical neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1237-45.
19. Maeda K, Chung YS, Ogawa Y, Takatsuka S, Kang SN, Ogawa M, et al. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma. *Cancer* 1996; 77: 858-63.
20. Dall P, Hekele A, Ikenberg H, et al. Increasing incidence of CD44v7/8 epitope expression during uterine cervical carcinogenesis. *Int J Cancer* 1996; 69: 79-85.
21. Deltas A, Schulthesis E, Almendral AC, Torhost J, Guda F. Expression of CD44 and variant isoforms in cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecol Oncol* 1996; 62: 218-25.
22. 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: 335-8.
23. Smith-McCune KK, Weidner N. Demonstration and characterization of the angiogenic properties of cervical dysplasia. *Cancer Res* 1994; 54: 800-4.
24. Matsumura Y, Tarin D. Significance of CD44 gene products for cancer diagnosis and disease evaluation. *Lancet* 1992; 340: 1053-8.
25. Kainz C, Tempfer C, Kohlberger P, Janisch S, Koelbl H, Gitsch G, et al. Immunohistochemical detection of adhesion molecule CD44 splice variants in lymph node metastases of cervical cancer. *Int J Cancer* 1996; 69: 170-3.
26. Kainz C, Kohlberger P, Sliutz G, Tempfer C, Heinzl H, Reinthaller A, et al. Splice variants of CD44 in human cervical cancer stage IB to IIB. *Gynecol Oncol* 1995; 57: 383-7.
27. 장희경, 허만하, 김동휘, 박은동. 병기 IB-IIB 자궁경부암에서의 CD44v4/5, CD44v6, α -smooth muscle actin과 nm23 발현. *대한병리학회지* 1997; 31: 546-56.
28. 김민석, 박인애, 함의근. 자궁경부 편평상피암종의 침윤 및 전이여부와 E-cadherin과 CD44변이형 발현의 차이에 대한 연구. *대한병리학회지* 1996; 30: 76.
29. Kim YJ, Yang SE, Paeng SS, Chang HJ, Suh JI. Angiogenesis in dysplasia and carcinoma of uterine cervix. *Korean J Pathol* 1996; 30: 176.
30. 안치석, 강지연, 이태수, 성노현. 자궁경부 상피병변에서 신생혈관형성의 의미에 대한 연구. *대한산부인과학회잡지* 1997; 40: 558-65.
31. Abulafia O, Triest W, Sherer D. Angiogenesis in squamous cell carcinoma in situ and microinvasive carcinoma of the uterine cervix. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 927-32.
32. Bremer GL, Tiebosch ATMG, van der Putten HWHM, Schouen HJA, de Haan J, Arends JW. Tumor angiogenesis: An independent prognostic parameter in cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174:

- 126-31.
33. Obermair A, Wanner C, Bilgi S, Speiser P, Kaider A, Reinthaller A, et al. Tumor angiogenesis in stage IB cervical cancer: Correlation of microvessel density with survival. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 314-9.
 34. Wiggins DL, Granai CO, Steinhoff MM, Calabresi P. Tumor angiogenesis as a prognostic factor in cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 1995; 56: 353-6.
 35. Kainz C, Speiser P, Wanner C, Obermair A, Tempfer C, Sliutz G, et al. Prognostic value of tumor microvessel density in cancer of the uterine cervix stage IB to IIB. *Anticancer Res* 1995; 15: 1549-52.
 36. Hoekel M, Vorndran B, Schlenger K, Baussmann E, Knapstein PG. Tumor oxygenation: A new predictive parameter in locally advanced cancer of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 1993; 51: 141-9.
 37. 안치석, 정은환, 성노현. 자궁경부암에서 맥관형성의 의미. *대한산부인과학회잡지* 1996; 39: 390-6.
 38. 이웅석, 김인선. 자궁경부암종의 병기와 신생혈관형성의 상관관계에 대한 연구. *대한병리학회지* 1998; 32: 283-9.
 39. 김기권, 김정란. 자궁경부의 편평상피암종과 고도상피내 종양에서의 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Phospholipase C-T1 및 Ki-67 발현 양상. *대한병리학회지* 1998; 32: 290-7.
 40. 이진숙, 서강석. 자궁경부암종에서 VEGF 발현 및 혈관형성능에 대한 면역조직화학적 연구. *대한병리학회지* 1999; 33: 96-102.

= 국문 초록 =

자궁경부의 편평상피성 종양 발달에 있어 고위험성 HPV 감염이 선행되고, CD44v7/8 발현의 증가가 나타나며, 혈관신생은 편평상피성 종양 발생 초기에 HPV와 연관되어 있다고 한다. 이에 본 연구는 자궁경부 편평상피성 종양 발달에 따른 CD44 변이형 발현, 미세혈관밀도, VEGF 발현의 차이를 알아보고, HPV 16/18 발현과 상기 인자의 연관성을 알아보고자 하였다. CIN III 17예, 미세침윤성 암종 14예, 침윤성 암종 15예에 대해 HPV 16/18 발현을 in situ PCR법으로 조사하였으며, 면역조직화학염색으로 CD44std, v6, v7/8의 발현부위와 양상을 조사하고, CD31을 이용하여 미세혈관밀도를 산정하였으며, 혈관신생성장 인자인 VEGF 발현을 반정량적으로 판독하였다. CD44std 발현은 편평상피성 병변에서 정상에 비해 감소하였고 CD44v6와 v7/8 발현은 증가하였으나 편평상피성 종양 등급에 따른 유의한 차이는 없었다. 침윤성 성장 부위에서 CD44v6 및 v7/8 발현 증가가 관찰되었으며, CD44v6는 미세침윤성 암종과 침윤성 암종 모두 높은 빈도를 보였으나 CD44 std, v7/8은 미세침윤성 암종에서는 높으나 침윤성 암종은 낮은 빈도를 보였다. 자궁경부 편평상피성 종양에서 미세혈관밀도와 VEGF 발현이 정상에 비해 현저히 높았으나 편평상피성 종양의 침윤 정도에 따른 차이가 없었으며, 미세혈관밀도와 VEGF 발현의 유의한 연관성은 나타나지 않았다. CD44std 및 CD44v6 발현율은 HPV 16/18 음성인 경우 조금 높았고, CD44v7/8 발현율은 HPV 16/18 양성인 경우 높았으나 유의한 차이는 아니었다. HPV 16/18 양성인 경우 고도 미세혈관밀도와 VEGF 2+ 발현을 보인 빈도가 다소 높았으나 통계학적 유의성은 없었다. 자궁경부 편평상피암종의 침윤성 성장에 있어서 CD44v6 와 v7/8이 관여하며, CD44v6는 지속적으로 영향을 미치는 반면 CD44std 및 v7/8의 영향은 점차 감소하는 것으로 생각되며, 종양 발달과정에 혈관신생이 나타나나 VEGF 외 다른 인자도 관여하리라고 추정되었다. 그러나 HPV 16/18 발현, CD44v6와 v7/8 발현, 혈관신생과의 연관성이 없으므로 자궁 경부 편평상피성 종양 발달에 나타나는 CD44v6와 v7/8 발현과 혈관신생이 HPV 16/18의 영향을 받는 것이 아니라고 생각된다.

중심단어 : 자궁경부, 편평상피성 종양, CD44, 미세혈관밀도, VEGF, HPV