

## 비소세포 폐암에서 종양 혈관신생과 병기 및 예후와의 관련성<sup>†</sup>

연세대학교 원주의과대학 호흡기내과, 병리학교실<sup>1</sup>, 관동대학교 의과대학 내과학교실<sup>2</sup>

리원연, 김정주<sup>2</sup>, 신표진, 조미연<sup>1</sup>, 용석중, 신계철

= Abstract =

### Relationship Between Tumor Angiogenesis, Stage and Prognosis in Non-Small Cell Lung Cancer

Won-Yeon Lee, M.D., Chong-Ju Kim, M.D.<sup>2</sup>, Pyo-Jin Shin,  
Mee-Yon Cho, M.D.<sup>1</sup>, Suk-Joong Yong, M.D., Kye-Chul Shin, M.D.

*Department of Pulmonology and Department of Pathology<sup>1</sup>,*

*Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju, Korea*

*Department of Internal Medicine, Kwandong University, Kangneung, Korea<sup>2</sup>*

**Background :** Tumor angiogenesis is required for tumor growth and metastasis. In this study, we investigated the correlation between the intensity of angiogenesis and stage, nodal status, histologic type, metastasis and survival rate of non-small cell lung cancer.

**Method :** Formalin fixed, paraffin embedded surgical specimens of 45 patients who had surgically resected primary non-small cell lung cancers without pre or post operative adjuvant chemotherapy or radiotherapy were examined. The microvessel count(MVC) was demonstrated by immunohistochemical staining for CD31(platelet endothelial cell adhesion molecule, PECAM).

**Results :** Microvessel counts(MVCs) in stage IIIA and IIIB were higher than in stage I and II ( $p < 0.05$ ). The MVC in patients with lymph node metastasis was higher than that in patients without lymph node metastasis, although the difference was not statistically significant( $p > 0.05$ ). However, in adenocarcinoma, the MVC in patients with lymph node metastasis was significantly higher than that seen in patients without lymph node

---

<sup>†</sup>본 논문의 요지는 1998년 87차 대한결핵 및 호흡기학회 추계 학술대회에서 발표되었습니다.

**Address for correspondence :**

Kye-Chul Shin, M.D.

Department of pulmonology, Yonsei University Wonju College of Medicine

162 Ilsan-dong, Wonju, Kangwon-do, 220-701, Republic of Korea

Phone : 82-33-741-1231 Fax : 82-33-746-4667 E-mail : kcshin@wonju.yonsei.ac.kr

metastasis( $p<0.05$ ). The MVC in adenocarcinoma was higher than that in squamous cell carcinoma( $p<0.05$ ). The difference between the MVCs of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma was not statistically significant in stage I and II or N0 stage( $p>0.05$ ). However, in stage IIIA and IIIB or N1~3 stage, the MVC in adenocarcinoma was higher than that in squamous cell carcinoma( $p<0.05$ ). MVC was more increased when metastasis developed within 12 months. In the same histologic type and stage, the duration of survival time in patients with high MVC was shorter than in patients with low MVC, however the difference was not statistically significant( $p>0.05$ ). The survival rate in patients with high MVCs was lower than that in patients with low MVCs( $P<0.05$ ).

**Conclusion :** In non-small cell lung cancer, MVC correlated relatively well with pathologic stage, nodal status (limited in patients with adenocarcinoma), histologic type, postoperative metastasis and survival rate. However, in the same histologic type and stage, MVC was not significantly related to the duration of survival. Therefore the assessment of the intensity of angiogenesis in non-small cell lung cancer may be helpful in predicting prognosis and in selecting patients for systemic adjuvant therapy of potential metastasis according to the results. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2001, 50 : 557-567)

**Key words :** Non-small cell lung cancer, Tumor angiogenesis, Stage, Metastasis, Prognosis.

## 서론

폐암은 우리 나라에서 두 번째로 많은 암이며 암으로 인한 사망의 세 번째를 차지하는 악성종양으로 그 비중이 점차 증가하는 추세에 있다<sup>1</sup>. 그 중 80%는 비소세포 폐암이며 완전 절제술만이 유일한 근본적 치료법이나 완전 절제술을 받은 환자에서도 5년 생존율은 50% 내외로 매우 낮게 보고되어 있다<sup>2,3</sup>.

진단 및 수술 당시의 TNM 병기판정은 비소세포폐암 환자에서 치료법을 결정하고 예후를 예측하는 데 절대적인 중요성을 갖는다. 그러나 같은 병기의 환자에서도 경과가 각각 다르고 예후 추정이 어려우므로 수술 후 보조요법을 받아야 하는 환자를 선별할 수 있는 방법이 필요하다.

종양의 혈관신생은 종양성장에 필수적인 과정으로<sup>4,5</sup> 종양의 발생은 혈관전기(prevascular phase)와 혈관기(vascular phase)로 나눌 수 있는데, 혈관전기에는 1~2mm 이상 성장할 수 없고 전신전이도 거의 없는 반면에 혈관기에는 성장속도가 매우 빠르고 전신전이의 경향이 많다<sup>5-7</sup>. 악성흑색종에서는 종양 혈관신생 정도를 평가하여 전이를 예측할 수 있음이 알려

져 있으며<sup>8,9</sup>, 유암의 경우에도 종양 혈관신생 정도와 림프절 및 전신전이의 경향이 상관관계가 있는 것으로 알려져 있다<sup>10,11</sup>. 최근 비소세포 폐암에서도 종양 혈관신생 정도의 의의에 대한 보고들이 있으나 대부분의 연구는 초기병기<sup>12-15</sup> 또는 선암종으로<sup>13,16</sup> 연구범위가 국한되고 주로 예후인자 또는 전이 예측인자로서의 역할에 대해서만 보고하는 등 제한적이다.

비소세포 폐암 중 선암종은 종격동 전이 및 전신전이의 경향이 많으나, 편평상피세포 암종은 국소적으로 성장하며 전신적 전이의 경향은 적다<sup>17,18</sup>. 따라서 선암종은 편평상피세포 암종에 비해서 종양 신생혈관이 더 발달되어 있을 것으로 예상할 수 있다. 또한 연구자에 따라 비소세포 폐암의 조직학적 유형에 따라 종양 혈관신생 정도가 다르며 병기, 림프절 전이 및 전신전이와 종양 혈관신생 정도와 상관성이 있음을 보고하거나<sup>19,20</sup> 조직학적 유형이나 병기, 림프절 전이 및 전신전이와 종양 혈관신생 정도와 상관성이 없음을 보고하였다<sup>21-23</sup>.

이에 본 연구에서는 비소세포 폐암에서, CD31 단세포 항체(JC70 항체)를 이용하여 면역조직화학 염색을 실시하여 광학현미경하에서 종양 혈관신생 정도

를 파악한 후 종양 혈관신생 정도와 병기, 림프절 전이, 전신전이 및 예후와의 관련성에 대하여 알아보고자 본 연구를 시행하였으며 아울러 조직학적 유형간에 종양 혈관신생 정도의 차이가 있는 지에 대하여 알아보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대 상

1989년 3월 1일부터 1998년 6월30일까지 연세대학교 원주의과대학 원주기독병원에서 비소세포 폐암으로 진단 후 완전 절제술을 실시하고 수술 전후로 보조요법을 시행하지 않았던 환자 55예 중, 조직보관 상태가 좋지 않았거나 염색성이 불량했던 10예를 제외하고, 종양 혈관신생 정도 평가를 위한 병리조직 활용이 가능하였던 45예로 하였다.

### 2. 종양 신생혈관의 면역조직화학 염색

선택한 대상의 파라핀 조직을 5 $\mu$ m 두께로 세절하여 poly-L-lysine을 입힌 슬라이드에 부착 고정하였다. 탈 파라핀, 함수, 수세 후 메틸알콜에 희석한 과산화수소수(1.5%  $H_2O_2$ )로 내인성 과산화효소의 활성을 억제하고 1.5% 말 혈청 단세포 항체를 봉쇄항체로 사용하여 20분 처치한 후 CD31 단세포 항체(JC70, Dako, Glostrup, Denmark)를 1차 항체로 사용하여 1시간 반응시켰다. 이후 peroxidase conjugate streptavidin(Dako, Glostrup, Denmark)으로 처리 후 Amino Ethyl Carbazole(AEC) substrate(K696 : Dako, Glostrup, Denmark)로 발색하였으며 대조염색으로 hematoxylineosin(H-E)염색을 시행하였다.

### 3. 종양 신생혈관의 계수

종양 혈관신생 정도는 면역조직화학 염색된 표본에서 갈색으로 염색된 신생혈관의 수로 평가하였으며 갈색



Fig. 1. Immunohistochemical stain for CD31 of non-small cell carcinoma(Adenocarcinoma). Vascular endothelium expressed CD31 with brown color( $\times 100$ ).

으로 염색된 혈관 내피세포로 피복된 혈관과, 혈관 내강을 이루지 않더라도 종양세포 및 연체조직 구조물과 분리되어 있는 한 개 또는 군집을 이룬 혈관 내피세포를 계수 가능한 한 개의 혈관으로 간주하였다. 또 한 절단면 상에서 들어오고 나가는 혈관이라고 생각되어도 두 혈관이 절단면 상에서 분리되어 있다면 각각의 혈관으로 계수하였다(Fig. 1).

신생혈관의 계수는 Weidner가 보고한 방법<sup>10</sup>을 변형 사용하였다. 먼저 저배율(40배)의 광학현미경 하에서 종양의 경화성 병변이나 괴사성 병변은 제외한 모세혈관 및 소세정맥을 가장 많이 포함하는 종양 부위, 이른바 hot spot 부위를 찾아내었다. 이후 고배율시야(100배) 세 군데에서 각각 혈관을 계수하여 그 중 가장 많은 수를 채택하였다. 신생혈관의 계수는 주관적 요소를 제거하기 위하여 실험 대상에 대한 정보를 모르는 채로 진행하였고 효과적으로 계수하기 위해 사진촬영 후 계수하였다.

### 4. 자료정리 및 통계처리

자료정리는 Excel 프로그램을 이용하였으며, 통계처리는 SPSS 8.0 for window 프로그램을 이용하여 처리하였다. 모든 통계적 수치는 평균  $\pm$  표준편차로 나

타내었다. 병기, 림프절 전이, 조직학적 유형 및 전신적 전이에 따른 중앙 신생혈관 수의 비교와, 동일한 조직학적 유형 및 병기에서 중앙 신생혈관 수에 따른 생존기간의 비교는 Mann-Whitney U test를 사용하여 p값이 0.05미만일 경우 통계적으로 의미 있는 것으로 하였다. 전체 대상의 예후비교는 미세혈관수의 중앙값을 cut off point로 하여 Kaplan-Meier 방법을 사용하여 생존곡선을 그렸으며, 통계적 비교는 log-rank test를 사용하여 p값이 0.05미만일 경우 의미 있는 것으로 하였다.

## 결 과

### 1. 대상 환자의 특징

대상 환자의 특성은 Table 1과 같았다.

ⅢA, ⅢB병기에서 수술 후 보조요법이 시행되지 않았던 17예는 ⅢA병기이면서 림프절 전이가 없었던 3예, 보조요법을 거부했던 8예, 수술 후 추적이 중단되었다가 보조요법의 수행능력이 없는 채로 내원했던 6예이었다. 추적기간은 수술일부터 사망한 날까지로 정하였으며, 생존자의 경우 2000년 4월 30일까지로 정하였다. 추적기간은 7~112개월로 중앙값은 33개월이었으며 추적기간 중 사망자는 19예이었다.

### 2. 병기에 따른 중앙 신생혈관 수의 비교

임상 양상과 예후가 비교적 비슷한 I, II 병기와 ⅢA, ⅢB를 그룹으로 하여 비교하였을 때 선암종의 ⅢA, ⅢB병기에서 I, II 병기보다 중앙 신생혈관의 수가 의의 있게 증가하여 있었다( $p < 0.05$ ). 편평상피세포 암종의 ⅢA, ⅢB병기에서 I, II 병기보다 중앙 신생혈관의 수가 증가하는 경향을 보였으나 통계적 의미는 없었다( $p > 0.05$ ). 그러나 조직학적 유형에 관계없이 병기에 따른 중앙 신생혈관의 수를 비교할 경우 ⅢA, ⅢB병기에서 I, II 병기보다 의의 있게 증가되어 있었다( $p < 0.05$ )(Table 2).

Table 1. Characteristics of patients

Sex :			Pathologic stage	
Male	34		I A	3
Female	11		I B	17
Age(years)	59.22 ± 9.08		II A	1
Cell types			II B	7
Squamous	26		III A	13
stage I	9		III B	4
II	8		Nodal stage	
III	9		N0	25
Adenocarcinoma	14		N1	8
stage I	6		N2	11
III	8		N3	1
Adenosquamous	4			
stage I	2			
III	2			
Bronchioloalveolar	1			
stage I	1			

### 3. 림프절 전이에 따른 중앙 신생혈관 수의 비교

수술 당시 림프절 전이가 있는(N1~3병기) 선암종에서 림프절 전이가 없는(N0병기) 선암종보다 중앙 신생혈관의 수가 의의 있게 증가되어 있었다( $p < 0.05$ ). 편평상피세포 암종에서 N1~3병기는 N0병기보다 중앙 신생혈관의 수가 증가하는 경향을 보였으나 통계적 의미는 없었다( $p > 0.05$ ). 조직학적 유형에 상관없이 림프절 전이에 대해서만 비교할 경우 전체적으로 N1~3병기는 N0병기보다 중앙 신생혈관의 수가 증가하는 경향을 보였으나 통계적 의미는 없었다( $p > 0.05$ )(Table 3).

### 4. 조직학적 유형에 따른 중앙 신생혈관 수의 비교

통계적으로 비교가 가능한 선암과 편평상피세포암을 대상으로 비교하였을 때, I, II 병기와 ⅢA, ⅢB병기에서 선암은 편평상피세포암보다 중앙 신생혈관의

**Table 2.** Microvessel count according to pathologic stage and cell type(mean  $\pm$  standard deviation)

cell type	Stage I, II (n*)	stage III A, III B (n*)	p-value
Adenocarcinoma	40.75 $\pm$ 6.71 (8)	55.17 $\pm$ 13.63 (6)	0.020
Squamous	41.47 $\pm$ 14.67 (17)	45.63 $\pm$ 8.14 (9)	0.440
Total	41.36 $\pm$ 13.02 (28)	50.13 $\pm$ 12.97 (17)	0.037

\*n : number of patients

**Table 3.** Microvessel count according to nodal stage(mean  $\pm$  standard deviation)

Cell type	N0(n*)	N1~3(n*)	p-value
Adenocarcinoma	40.75 $\pm$ 6.71 (8)	55.17 $\pm$ 13.63 (6)	0.022
Squamous	33.11 $\pm$ 10.80 (13)	38.33 $\pm$ 7.30 (13)	0.819
Total	42.38 $\pm$ 13.80 (25)	47.15 $\pm$ 13.08 (20)	0.249

\*n : number of patients

**Table 4.** Microvessel count according to cancer cell type(mean  $\pm$  standard deviation)

Stage	Adenocarcinoma(n*)	Squamous(n*)	p-value
I, II	40.75 $\pm$ 6.71 (8)	41.47 $\pm$ 14.67 (17)	0.897
III A, III B	55.17 $\pm$ 13.63 (6)	45.63 $\pm$ 8.14 (9)	0.126
N0	40.75 $\pm$ 6.71 (8)	43.38 $\pm$ 16.38 (13)	0.672
N1~3	55.17 $\pm$ 13.63 (6)	42.17 $\pm$ 8.36 (13)	0.023
Total	46.93 $\pm$ 12.27 (14)	42.80 $\pm$ 12.91 (26)	0.336

\*n : number of patients

**Table 5.** Microvessel count according to duration of metastasis and pathologic-stage(mean  $\pm$  standard deviation)

Stage(n*)	12months(n*)	12months(n*)	P value
I, II(28)	40.56 $\pm$ 13.56(25)	48.00 $\pm$ 2.65(3)	>0.05
III(16)	44.27 $\pm$ 10.02 (9)	57.71 $\pm$ 12.93(7)	0.034
Total(44)	41.53 $\pm$ 12.68(34)	54.8 $\pm$ 11.62(10)	0.005

\*n : number of patients

수가 증가하는 경향을 보였으나 통계적 의미는 없었다 ( $p > 0.05$ ).

N0병기에서 선암은 편평상피세포암보다 중앙 신생혈관의 수가 증가하는 경향을 보였으나 통계적 의미는 없었다( $p > 0.05$ ). 그러나 N1~3병기의 선암종에서

편평상피세포암보다 중앙 신생혈관의 수가 유의있게 증가되어 있었다( $p < 0.05$ ).

전체적으로 선암에서 편평상피세포암보다 중앙 신생혈관의 수가 증가하는 경향을 보였으나 통계적 의미는 없었다( $p > 0.05$ )(Table 4).

Table 6. Survival time according to microvessel counts(MVC) in patients with same tumor cell type and same stage(months, mean)

	Adenocarcinoma		Squamous	
	low MVC(n*)	high MVC(n*)	low MVC(n*)	high MVC(n*)
Stage I, II	60.50(4)	50.25(4) <sup>#</sup>	56.73(11)	28.71(7) <sup>†</sup>
Stage III	25.50(2)	12.50(4) <sup>#</sup>	77.33(3)	35.80(5) <sup>#</sup>
*n : number of patients <sup>†</sup> P value<0.05 <sup>#</sup> P value>0.05				

## 5. 전신전이와 중앙 신생혈관 수의 관계

수술 후 합병증으로 사망한 1예를 제외한 44예를 대상으로 전이여부와 기간에 따른 중앙 신생혈관 수를 비교하였다. 재발전이기간은 수술일부터 전이를 발견한 날까지로 정하여 개월 수로 나타내었다. 총 24예에서 재발전이가 발견되었으며 장기별로는 폐 13예, 간 7예, 부신 2예, 종격동 임파선 1예, 뇌 1예였다. 재발전이기간은 2~57개월로 중앙값은 16개월이었다. 편평상피세포암 26예 중 10예, 선암 14예 중 11예, 선암과 편평상피세포암이 혼재된 암 2예 중 2예에서 전이가 발생하였다. 전이가 있던 군(24예)의 중앙 신생혈관의 수는  $49.13 \pm 14.47$ 로 전이가 없던 군(20예)의 중앙 신생혈관의 수인  $39.52 \pm 10.63$ 보다 중앙신생혈관수가 유의있게 증가되어 있었다( $P=0.017$ ). 수술일부터 12개월 이내에 전신전이가 일어난 경우를 조기전이로 정하였을 때 조기전이가 있었던 환자에서 조기전이가 없었던 환자보다 중앙 신생혈관의 수가 의미 있게 증가되어 있었다( $p<0.05$ ) (Table 5).

수술 후 합병증으로 사망한 1예를 제외한 44예의 중앙 신생혈관 수의 평균값은 100배 시야 당  $44.55 \pm 13.55$ 개였으며, 중앙값은 100배 시야 당 44개이었다. 중앙값을 기준으로 두 군으로 나누었을 때 100배 시야 당 44개 이하인 환자들은 22예이었으며, 100배 시야 당 44개를 넘는 환자들은 22예이었다. 중앙 신생혈관의 수가 적은 환자( $\leq 44$ 개/100배 시야)에서는 22예 중 8예(36.3%)에서 전신전이가 발생하였으며, 중앙 신생혈관의 수가 많은 환자( $>44$

개/100배 시야)에서는 22예 중 16예(72.7%)에서 전신전이가 발생하였다. 두 군간의 비교위험도는 10.83으로 추계되었다.

## 6. 중앙 신생혈관 수에 따른 예후의 비교

동일 조직학적 유형과 병기에서 중앙 신생혈관의 수에 따른 예후를 비교하기위하여 편평상피세포암과 선암종에서 I, II 병기와 IIIA, IIIB에 따른 중앙 신생혈관 수의 평균을 각각 구하여 평균치 이상과 이하군의 생존기간을 비교하였다(Table 6). 선암종의 I, II 병기인 환자군에서 평균 중앙 신생혈관 수는 100배 시야 당  $40.75 \pm 6.71$ 개이었으며 중앙 신생혈관 수가 41개 이하인 환자에서는 생존기간이 60.5개월, 41개 이상인 환자에서는 50.25개월로 중앙 신생혈관 수가 많은 군에서 생존기간이 감소되는 경향을 보였으나 통계적 차이는 없었다( $p>0.05$ ) (Table 6). 선암종에서 IIIA, IIIB 병기인 환자의 평균 중앙 신생혈관 수는 100배 시야 당  $55.17 \pm 13.63$ 개이었으며 중앙 신생혈관 수가 55개 이하인 환자에서는 생존기간이 25.5개월, 55개 이상인 환자에서는 12.5개월로 중앙 신생혈관 수가 많은 군에서 생존기간이 감소되는 경향을 보였으나 통계적 차이는 없었다( $p>0.05$ ) (Table 6).

편평상피세포 암종에서 I, II 병기인 환자의 평균 중앙 신생혈관 수는 100배 시야 당  $41.47 \pm 14.67$ 개이었으며 중앙 신생혈관 수가 41개 이하인 환자에서는 생존기간이 56.73개월, 41개 이상인 환자에서는 28.71개월로 중앙 신생혈관 수가 많은 군에서 생존기간이 유의있게 증가하였다( $p<0.05$ ) (Table 6). 편평

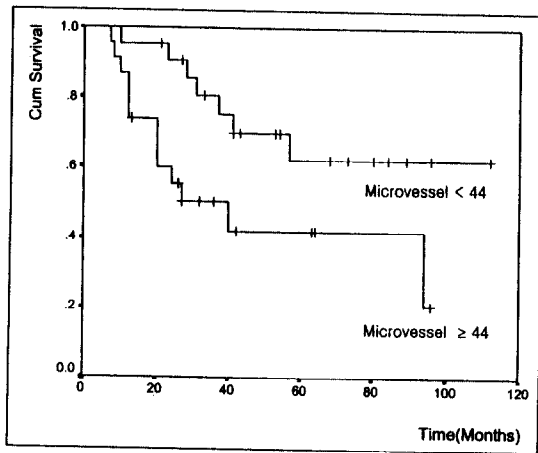


Fig. 2. Survival curve according to microvessel count. ( $P=0.025$ )

상피세포 암종에서 IIIA, IIIB 병기인 환자의 평균 종양 신생혈관 수는 100배 시야 당  $45.63 \pm 8.14$ 였으며 종양 신생혈관 수가 46개 이하인 환자에서는 생존기간이 77.33개월, 46개 이상인 환자에서는 35.8개월로 종양 신생혈관 수가 많은 군에서 생존기간이 감소되는 경향을 보였으나 통계적 차이는 없었다( $p>0.05$ ) (Table 6).

전체환자의 종양신생혈관 수에 따른 생존율을 보기 위하여 중앙값인 100배 시야 당 종양신생혈관 수 44개를 기준으로 두 군으로 나누어 비교하였을 때 종양 신생혈관 수 44개 이상인 환자와 이하인 환자 모두 22예였으며 생존기간은 중앙값이 각각 49개월과 90개월로 종양신생혈관 수가 많은 군에서 생존기간이 유의하게 적었다( $P=0.025$ ) (Fig. 2).

## 고 찰

종양은 직경 1~2mm까지는 자연 성장하지만 그 이상의 성장에는 종양 혈관신생의 과정이 요구되어진다. 종양 신생혈관은 종양조직에 산소와 영양공급을 담당하며, 종양조직에서 발생한 산과 독성 대사물질을 제거함으로써 종양의 성장을 가능하게 한다. 뿐만 아니라 종양세포의 전신적 전이의 경로를 제공하는 역할을

하게 된다. 종양 혈관신생에는 basic fibroblast growth factor(b-FGF), interleukin-8(IL-8), vascular endothelial growth factor(VEGF) 및 angiogenin 등과 같은 혈관신생 자극인자와 angiostatin, interferon- $\alpha$ (INF- $\alpha$ ), interferon- $\beta$ (INF- $\beta$ ) 및 thrombospondin-1(TSP-1) 등의 혈관신생 억제인자가 관여한다<sup>26</sup>.

종양 혈관신생의 정도는 Factor VIII related antigen, CD31(platelet endothelial cell adhesion molecule, PECAM) 및 CD34 등과 같은 혈관 내피세포 항원의 단세포 항체를 이용하여 면역조직화학 염색 후 광학현미경 하에서 종양 신생혈관을 계수하여 판정이 가능하다<sup>10, 24, 27</sup>. 그러나 Factor VIII related antigen에 대한 면역조직화학 염색은 종양 신생혈관 염색에 있어서 예민도가 떨어지며, 림프관 내피세포와 교차반응을 보이는 것으로 알려져 있어 CD31 및 CD34에 대한 면역조직화학 염색이 추천되는 것이 최근의 추세이다<sup>28</sup>. Yuan등의 보고에서는 같은 대상에서 Factor VIII related antigen 염색에 비하여 CD31 염색의 경우에 종양 신생혈관 수가 더 많은 것으로 나타나 이러한 경향을 뒷받침 해준다<sup>19</sup>. 그러므로 본 연구에서는 CD31 염색으로 종양 신생혈관을 계수하였다. 그러나 현재 알려진 바로는 원래 조직의 혈관과 종양 신생혈관을 구분할 수 없다는 문제점이 있다. 본 연구에서 계수된 혈관 중 일부 대상의 경우는 원래 조직의 혈관이 많이 반영되었을 것을 예상할 수 있으나, 여러 임상적 변수들이 염색된 혈관의 수와 관련성을 갖는 것으로 보고한 경우가 많으며<sup>14, 16, 19, 29-31</sup>, 원래 조직의 혈관 수는 종양 신생혈관의 수에 비해 상대적으로 소수일 것으로 생각되어 계수된 혈관은 모두 종양 신생혈관으로 간주하였으며, 실제 결과적으로 종양의 진행 정도에 따라 종양 내 혈관의 증가를 관찰할 수 있었다.

종양의 성장에 종양 혈관신생이 필수적이라는 사실에서 종양 신생혈관의 수가 종양의 병기가 진행될수록 증가되어 있을 것이라 생각할 수 있는데 본 연구에서는 Yuan 등의<sup>19</sup> 결과와 마찬가지로 낮은 병기(I, II 병기)의 환자보다 높은 병기(IIIA, IIIB)의 환자에

서 종양 신생 혈관 수가 의미 있게 증가되어 있었다 (Table 2). 그러나 천 등, 고 등과 몇몇 연구자들은 병기와 종양 혈관신생 정도와 상관성이 없음을 보고하였다<sup>20-23</sup>. 이와 같이 연구에 따라 차이가 나는 것은 위의 연구들은 선암에서 종양 신생 혈관 수가 의미 있게 증가되어 있었음을 보고하였는데 이를 고려할 때 각 병기마다 대상환자의 조직학적 유형의 비율에 따라 영향을 받았을 가능성을 배제할 수 없다.

림프절 전이는 림프경로를 통하여 이루어지므로 종양 혈관신생과는 관련이 없을 것이라고 예상할 수 있으며, Yamazaki 등, 천 등은 선암종에서 림프절 전이와 종양 혈관신생과의 무관함을 보고한 바 있다<sup>16, 21</sup>. 그러나 일부에서는 림프절 전이가 있는 환자가 림프절 전이가 없는 환자 보다 종양 신생혈관의 수가 의미 있게 증가되어 있음을 보고하고 있다<sup>19, 30</sup>. 본 연구에서는 선암종은 림프절 전이가 있는 환자와 없는 환자간에 종양 신생혈관 수의 의미 있는 차이가 관찰되었으나 편평상피세포 암종에서는 의미 있는 차이가 관찰되지 않았다 (Table 3). 조직학적 유형에 상관없이 림프절 전이 여부에 따라 비교할 경우에도 의미 있는 차이는 관찰되지 않았다. 이는 아마도 편평상피세포 암종의 영향에 의하여 전체적으로도 의미가 없는 것으로 나타난 것으로 생각된다. 그러나 선암종에서 림프절 전이와 종양 신생혈관 수 사이에 관련성이 있는 것은 종양 혈관신생의 과정에서 종양 신생혈관에 의해 종양세포가 혈관 뿐 아니라 림프관과도 연결 경로를 갖게되기 때문이라고 생각할 수 있다. 비슷한 경우로 각막에서 혈관신생이 발생한 후에 그 전에 각막에 주사했던 india ink가 동측의 림프절에서 발견되었다는 동물실험 보고도 있다<sup>32</sup>.

조직학적 유형에 따른 차이를 보면 선암종의 경우는 편평상피세포 암종에 비하여 전신전이의 경향이 많고 종격동 전이 역시 더 잘 발생하기에 선암종이 편평상피세포 암종보다 종양 신생혈관이 더 잘 발달되어 있을 것으로 예측할 수 있다. Yuan 등은 선암종이 편평상피세포 암종에 비해 종양 신생혈관의 수가 증가되어 있음을 보고하였다<sup>19, 20</sup>. 그러나 천 등, Chandrad

등은 조직학적 유형과 종양 신생혈관의 수는 관련이 없는 것으로 보고한 바 있다<sup>21, 23</sup>. 본 연구에서는 병기 및 림프절 전이와 관련 없이 선암종에서 편평상피세포 암종에 비해 종양 신생혈관이 의미 있게 증가되어 있었다. 또 병기가 낮거나 림프절 전이가 없는 환자는 선암종이 편평상피세포 암종보다 종양 신생혈관의 수가 증가되어 있었으나 통계적 의미는 없었던 반면 병기가 높거나 림프절 전이가 발생한 경우에는 의미 있는 차이를 보였다 (Table 4). 즉, 선암종과 편평상피세포 암종 사이의 종양 혈관신생의 차이는 초기병기에도 나타나지만 종양이 진행되고 림프절 전이가 발생한 경우에 더욱 확실해진다고 할 수 있다.

그간에는 종양 신생혈관의 수가 증가할수록 전이의 발생률이 높다는 보고들이 많으나<sup>14, 16, 19, 29-31</sup> 일부의 보고들은 의미가 없는 것으로 보고하고 있다<sup>22, 23</sup>. 본 연구에서는 조기전이 (수술 후 12개월 이내에 전신전이 발생한 경우)가 있는 환자는 없는 환자에 비해 종양 신생혈관 수가 의미 있게 증가되어 있었으며, 종양 신생혈관의 수가 증가할수록 전신 전이율이 높았다 (Table 5). 이러한 결과는 종양 혈관신생의 과정이 전신전이의 중요한 기전이기 때문이라고 보인다.

동일한 조직학적 유형 및 병기에서의 경과 및 예후를 예측할 수 있는 인자로서의 종양혈관신생의 역할에 대해서는 여러 연구에서 종양 신생혈관의 수가 증가할수록 예후가 나쁘다고 보고하였으나<sup>12-14, 20, 31</sup> Pastorino 등은 그 관련성을 부정하였다<sup>15</sup>. 본 연구에서 동일한 조직학적 유형 및 병기를 가진 환자군에서 종양 신생혈관 수에 따른 생존기간을 비교할 때, 동일한 조직학적 유형 및 병기를 가진 각 소집단에서 종양 신생혈관의 수가 높은 군에서 생존기간이 감소되는 경향이 있었으며 I, II 병기의 편평상피세포암에서는 통계적 의의가 있었으나 다른 세 군에서는 통계적 의미가 없었다 (Table 6). 이는 대상 환자의 수가 적어 통계적으로 충분히 반영되지 못했을 가능성이 있으므로 좀 더 많은 환자를 대상으로 연구를 할 필요성이 있다 할 수 있다.

Fontanini 등은 종양 신생혈관의 수가 독립적인 예



후인자 임을 보고한 바 있으며<sup>30</sup> 고 등도 종양 신생혈관이 많은 환자들에서 적은 환자들보다 생존기간이 짧음을 보고하였다<sup>20</sup>. 본 연구에서도 전체 환자를 대상으로 한 생존곡선 상에서 종양 신생혈관이 많은 환자들과 적은 환자들의 중앙생존기간은 각각 49개월과 90개월로 종양신생혈관 수가 많은 군에서 생존기간이 의의 있게 적었다(log-rank test,  $p < 0.05$  (Fig 2)).

결론적으로 본 연구는 비록 대상 환자의 수가 적고, 종양 신생혈관과 원래 조직의 혈관이 구분되지 않는다는 제한점에도 불구하고, 비소세포 폐암에서 종양 혈관신생은 병기의 진행, 림프절 전이(선암종에 한정되어서) 및 조직학적 유형(선암종)에 따라 증가하며, 종양 신생혈관 수가 증가될수록 조기전이가 잘 발생하고 전신전이율이 높음을 알 수 있었다. 또 대상 환자 전체를 대상으로 하였을 때 종양 신생혈관의 수가 증가된 환자에서 생존율이 낮다는 것을 알 수 있었다. 그러나 동일한 조직학적 유형 및 병기에서는 종양 혈관신생의 수가 증가함에 따라 생존기간이 감소되는 경향이 있으나 통계적 의미는 없었다. 이러한 결과는 대상 환자의 수가 적어 통계적으로 의미가 없는 것으로 나타났을 가능성이 있으므로 좀 더 많은 수의 환자를 대상으로 한 추적연구가 필요할 것으로 생각되어진다. 그 결과에 따라서는 일부 연구자들의 의견과 같이 비소세포 폐암에서 완전절제술 후 예후를 예측하고 전신적 보조요법을 받을 환자를 선별하는데 있어서 종양 혈관신생 정도를 파악하는 것이 도움이 될 수도 있을 것으로 생각된다<sup>13, 14, 21, 31</sup>. 나아가서는 독성과 약물내성이 적고 이차 암종의 발생 위험이 적다는 점에서 혈관신생 억제물질을 효과적인 전신 보조요법으로 이용할 수도 있을 것이다.

## 요 약

### 연구배경 :

종양 신생혈관은 종양조직에 산소 및 영양물질을 제공하고 종양조직에서 발생한 산과 독성 대사물질을 제거하여 종양의 성장을 가능하게 하며, 종양세포의 전신

전이의 경로를 제공하는 역할을 하므로 종양의 혈관신생은 종양의 성장과 전이의 과정에서 필수적이다. 피부 악성흑색종이나 유암에서는 종양 혈관신생의 정도와 림프절 전이, 전신전이 및 예후와의 관련성이 잘 알려져 있다. 이에 본 연구에서는 비소세포성 폐암에서 종양 혈관신생 정도와 병기, 림프절 전이, 전신전이 및 예후와의 관련성에 대하여 알아보려고 하였으며 아울러 조직학적 유형간에 종양 혈관신생 정도의 차이가 있는 지에 대하여 알아보려고 하였다.

### 방 법 :

1989년 3월 1일부터 1998년 6월 30일까지 연세대학교 원주의과대학 원주기독병원에서 비소세포 폐암으로 진단 받은 후 완전 절제술을 실시하고 수술 전후에 보조요법을 시행하지 않았던 환자 45예를 대상으로 CD31 단세포 항체 (JC70항체)를 이용하여 면역조직화학 염색을 실시하여 종양 혈관신생 정도를 파악한 후 종양 혈관신생 정도와 병기, 림프절 전이, 전신전이 및 예후를 비교 하였다.

### 결 과 :

비소세포 폐암의 조직학적 유형에 관계없이 IIIA, IIIB 병기의 환자에서 I, II 병기의 환자에 비하여 종양 신생혈관의 수는 의미 있게 증가되어 있었다( $p < 0.05$ ). 선암종에서 림프절 전이가 있는 환자에서 림프절 전이가 없는 환자에 비하여 의미 있는 증가가 있었다( $p < 0.05$ ). 선암종에서 편평상피세포 암종에 비하여 종양 신생혈관의 수는 의미 있게 증가되어 있었으며( $p < 0.05$ ), I, II 병기와 N0병기에서는 선암종에서 편평상피세포 암종에 비하여 증가하는 경향을 보였으나 통계적 의미는 없었으며( $p > 0.05$ ), IIIA, IIIB 병기와 N1~3병기에서는 선암종이 편평상피세포 암종에 비하여 의미 있는 증가를 보였다( $p < 0.05$ ). 조기전이가 일어난 환자(12개월 이내에 전신전이가 발견된 환자)에서 조기전이가 일어나지 않은 환자에 비하여 종양 신생혈관의 수는 의미 있게 증가되어 있었으며( $p < 0.05$ ), 전체 대상의 종양 신생혈관 수의 중앙값(100배 시야 당 44개)을 기준으로 종양 신생혈관의 수가 많은 환자(>44개/100배 시야)는 적은 환자

( $\leq 44$ 개/100배 시야)에 비하여 전신 전이율이 높았다(비교 위험도 10.83). 전체 대상환자에서 종양 신생혈관의 수가 많은 환자( $> 44$ 개/100배 시야)는 적은 환자( $\leq 44$ 개/100배 시야)에 비하여 의미 있게 낮은 생존율을 보였다( $p < 0.05$ ).

#### 결 론 :

비소세포 폐암에서 종양 혈관신생은 병기, 림프절 전이(선암종에 한정되어), 조직학적 유형 및 조기전이와 관련성이 있으며, 종양 신생혈관의 수가 증가할수록 전신전이율이 높고 불량한 예후를 보임을 알 수 있었다. 이 결과로 비소세포 폐암에서 완전절제술 후 예후를 예측하고 전신적 보조요법을 시행할 환자를 선별하는데 있어서 종양 혈관신생 정도를 파악하는 것이 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다.

#### 참 고 문 헌

1. 김진복. 한국인의 5대 암질환의 진료현황과 생존율. 대한의학협회지 1995;38:157-64
2. 강민중, 박계영, 유철규, 정희순, 김영환, 한성구, 심영수. 비소세포 폐암 환자의 수술 후 예후. 결핵 및 호흡기 질환 1996;43:331-8
3. Sohn KH, Kwak YT, Cho KH, Kim JH, LeeDY, Kim KT, et al. A survival study of surgically treated lung cancer in Korea. J Kor Med Sci 1991;6:135-45
4. Schor AM, Schor SL. Tumor angiogenesis. J pathol 1983;41:385-413
5. Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. Nature 1989;339:58-9
6. Sillman F, Boyce J, Fruchter R. The significance of atypical vessels and neovascularization in cervical neoplasia. Gynecol 1980;139:154-9
7. Jensen HM, Chen I, DeVault MR, Lewis AE. Angiogenesis induced by "normal" human breast tissue : A probable marker for precancer. Science 1982;218:293-5
8. Herlyn M, Clark WH, Rodeck U, Mancianti ML, Jambrosic J, Koprowski H. Biology of tumor progression in human melanocyte. Lab Invest 1987;56:461-74
9. Srivastava A, Laidler P, Davies RP, Horgan K, Hughes LE. The prognostic significance of tumor vascularity in intermediate-thickness(0.76-4.0mm thick) skin melanoma : a quantitative histologic study. Am J Pathol 1988;133:419-23
10. 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
11. Horak ER, Leek R, Klenk N, Lejeune S, Smith K, Stuart N, Greenall M, Stepniewska K, Harris AL. Angiogenesis, assessed by platelet/endothelial cell adhesion molecule antibodies, as indicator of node metastasis and survival in breast cancer. Lancet 1992;340:1120-4
12. Apolinario RM, Valk P, Jong JS, Deville W, ArkOtte J, Dingemans AMC, Mourik JC, Postmus PE, Pinedo HM, Giaccone G. Prognostic value of the expression of p53, bcl-2, and bax oncoproteins, and neovascularization in patients with radically resected non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol 1997;15:2456-66
13. Kawaguzi T, Yamamoto S, Kudoh S, Goto K, Wakasa K, Sakura M. Tumor angiogenesis as a major prognostic factor in stage I lung adenocarcinoma. Anticancer Res 1997;17:3743-6
14. Lucchi M, Fontanini G, Mussi A, Vignati S, Ribecchini A, Menconi GF, et al. Tumor angiogenesis and biologic markers in resected stage I NSCLC. Eur J Car Thorac Surg 1997;

- 12:535-41
15. Pastorino U, Andreola S, Tagliabue E, Pezzella F, Incarbone M, Sozzi G, et al. Immunocytochemical markers in stage I lung cancer : relevance to prognosis. *J Clin Oncol* 1997;15:2858-65
16. Yamazaki K, Abe S, Takekawa H, Sukoh N, Watanabe N, Ogura S, et al. Tumor angiogenesis in human lung adenocarcinoma. *Cancer* 1994;74: 2245-50
17. Libshitz HI, McKenna RJ, Mountain CF. Patterns of mediastinal metastases in bronchogenic carcinoma. *Chest* 1986;90:229-32
18. Minna JD. Chapter 88. Neoplasm of the lung. In Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 15th ed. New York, McGraw Hill, Inc.;2001, p. 562-571.
19. Yuan A, Yang PC, Yu CJ, Lee YC, Yao YT, Chen CL, et al. Tumor angiogenesis correlates with histologic type and metastasis in non-small-cell lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:2157-62
20. 고혁재, 박정현, 구향, 양세훈, 정은택. 원발성 비소세포암에 있어서 미세혈관 신생의 임상적 예후 인자로서의 의의. *결핵 및 호흡기질환* 2000;48: 757-65
21. 천선희, 김성숙, 라선영, 정현철. Human lung cancer에서 면역세포화학적 방법을 이용한 tumor angiogenesis에 관한 연구. *결핵 및 호흡기질환* 1996;43:894-902
22. Mattern J, Koomagi R, Volm M. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis in non small cell lung cancer. *Int J Oncol* 1995;6: 1059-62
23. Chandrachud LM, Pendleton N, Chishim DM, Horan MA, Schor AM. Relationship between vascularity, age and survival in non-small-cell lung cancer. 1997; *Br J Cancer* 76:1367-75
24. Albelda SM, Muller WA, Buck CA, Newman PJ. Molecular and cellular properties of PECAM-1 (endoCAM/CD31) : a novel vascular cell-cell adhesion molecule. *J Cell Biol* 1991;14:1059-68
25. Kuzu I, Bicknell R, Harris AL, Jones M, Gatter KC, Mason DY. Hetrogeneity of vascular endothelial cells with relevance to diagnosis of vascular tumors. *J Clin Pathol* 1992;45:143-8
26. Fidler I, Ellis LM. The implications of angiogenesis for the biology and therapy of cancer metastasis. *Cell* 1994;79:185-8
27. Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors. *Breast Cancer Res Treat* 1995;36:169-80
28. Sikora J. Tumor angiogenesis in human lung adenocarcinoma. *Cancer* 1995;76:915-6
29. Macchiarini P, Fontanini G, Hardin MJ, Squartini F, Angeletti CA. Relation of neovascularisation to metastasis of non-small-cell lung cancer. *Lancet* 1992;340:145-6
30. Fontanini G, Bigini D, Vignati S, Basolo F, Mussi A, Lucchi M, Chine S, Angeletti CA, Harris AL, Bevilacqua G. Microvessel count predicts metastatic disease and survival in non-small-cell lung cancer. *J Pathol* 1995;177:57-63
31. Angeletti CA, Lucchi M, Fontanini G, Mussi A, Chella A, Ribenchini A, Vignati S, Bevilacqua G. Prognostic significance of tumoral angiogenesis in completely resected late stage lung carcinoma (stage IIIA-N2). *Cancer* 1996;78:409-15
32. Smith SS, Basu PK : Mast cells in corneal immune reaction. *Can J Ophthalmol* 1970;5:175-183