

대장암에서 미세혈관 밀도가 예후에 미치는 영향

원광대학교 의과대학 외과학교실 및 ¹병리학교실

이 정 균 · 한 원 철¹

= Abstract =

The Prognostic Significance of Tumor Microvessel Density in Colorectal Carcinoma

Jeong Kyun Lee, M.D. and Weon Cheol Han, M.D.¹

Department of Surgery and ¹Pathology, College of Medicine, Wonkwang University

Purpose: This study was carried out to evaluate the relationship with other clinicopathologic factors and prognostic significance of tumor microvessel density in colorectal carcinoma. **Materials and Methods:** 71cases of primary colorectal carcinoma (Modified Astler-Coller stage B and C) were analysed retrospectively who underwent curative resection at Wonkwang university hospital from September, 1991 to September, 1993. Male was 39cases. Age under 60 years was 31cases. 5 year survival rates were 80% (50 cases) in stage B and 52.4% (21 cases) in stage C. Tumor microvessels were stained by immunohistochemical method using anti-CD31 on paraffine embedded tissues, and were counted within 10x objective field (about 0.74 mm²) in the area of the most intense neovascularization. **Results:** Mean microvessel Density (MVD) was 56.3±18.0 (range 19~128). MVD was 55.2 in 11 cases of nonrecurrent group and 73.5 in 10 cases of recurrent group in stage C (p=0.012). There was no significant association between MVD and other parameters such as age, sex, tumor location and size, CEA, lymph node metastasis, and survival. The 5 year survival rates of 33 cases of MVD≤56 and 38 cases of MVD>56 were 84.9 and 60.5% respectively(p<0.05). 5 year survival rates of MVD≤56 groups adjusted for age, sex, tumor location, differentiation, and recurrence were higher than those of >56 groups. 5 year survival rates of MVD≤56 and >56 groups in stage C were 100% (5 cases) and 37.5% (16 cases) (p<0.05). **Conclusion:** Tumor microvessel density may have somewhat prognostic significance in colorectal carcinoma.

Key Words: Colorectal carcinoma, Microvessel density

책임저자 : 이정균, 전북 익산시 신룡동 344-2, 원광대학교 의과대학병원 외과(우편번호: 570-711)
(Tel: 850-1205, Fax: 855-2386, E-mail: rjk@wonnm.wonkwang.ac.kr)

* 본 논문은 1998년도 원광대학교 교비 지원하에 연구됨.

서 론

새로운 혈관의 형성은 종양의 생성과 진행, 전이에 중요하다. 맥관신생과 억제에는 수많은 인자들이 관여하며 근래 여러가지 방법으로 미세혈관의 밀도를 측정하거나 맥관신생을 촉진시키는 물질들과 억제하는 물질들을 측정 또는 이용함으로써 각종 암들에서 예후인자나 전통적인 암치료의 반응에 대한 예측인자로서, 암치료의 목표물로 응용하고자 시도되고 있는데,^{4,5,15,18} 측정된 미세혈관 밀도와 실제 예후와의 관련성에 대해서는 논란이 있다. 이에 저자들은 대장암에서 미세혈관 밀도와 기존의 임상 병리학적 인자들과의 관계 및 예후와의 관계를 알아보기 위해 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1) 연구 대상

1991년 9월부터 1993년 9월까지 원광대학교 의대병원에서 근치수술을 받은 Astler Coller 변형 병기 B, C 대장암 환자중 5년 이상 추적조사가 가능했고 파라핀 조직표본의 보관상태가 양호한 71명을 대상으로 후향적으로 분석하였다. 남자는 39명, 여자는 32명이었고 60세 이상은 40명, 미만은 31명이었다. 병기 B는 50명, C는 21명이었는데 5년 생존율은 80%, 52.4% 이었다.

2) 연구방법

미세혈관의 염색은 동일연구자에 의해 CD31에

Table 1. Microvessel density (MVD) according to other clinicopathological factors in colorectal cancer (n=71)

		Number	mean MVD	P
Age(year)	<60	31	52.6±18.9	NS
	≥60	40	59.1±17.0	
Sex	Male	39	56.1±17.2	NS
	Female	32	56.6±19.2	
CEA	≤6	56	55.9±7.9	NS
	>6	15	57.9±18.8	
Location	Right	19	47.0±19.3	NS
	Left	19	58.9±20.3	
	Rectum	33	60.1±14.1	
Size	<5 cm	35	54.6±19.8	NS
	≥5 cm	36	57.9±16.2	
Differentiation	Well	24	54.8±21.5	NS
	Moderately	43	56.5±16.1	
	Poorly	4	63.5±17.0	
Dukes'	B	50	53.1±17.4	NS
	C	21	63.9±17.4	
Recurrence	Negative	49	53.1±17.2	NS
	Positive	22	63.3±18.2	
Dukes'B	Negative	28	52.5±17.4	NS
	Positive	12	54.8±18.3	
C	Negative	11	55.2±16.9	0.012
	Positive	10	73.5±12.5	
Survival	Live	51	52.2±15.7	0.102
	Dead	20	66.7±19.7	

대한 단크론 항체를 일차항체로 하여 면역조직 화학적 방법으로 검사하였다. 먼저 H-E 염색후 광학현미경 시야에서 종양이 가장 저명하게 관찰 되는 파라핀 포매피를 선택하여 박절한 후 탈파 라핀과 함수과정을 거쳐, 일차항체로 CD31에 대한 mouse 단크론항체인 JC/70A(DAKO, USA)에 30분 동안 부치시켰다. 그 후 biotin이 부착된 2차 항체에 30분 동안 부치시킨 후 발색제로 fast red TR salt를 이용하였고 헤마톡실린으로 대조염색을 하였다. 양성 대조염색은 CD31에 양성반응을 보였던 위암조직을 대상으로 하여 동일한 방법으로 염색하였으며, 음성 대조염색은 일차항체 대신 생 리적 식염수로 처리하고 나머지 과정은 동일한 방법으로 염색하였다. 염색결과와 판독은 먼저 저 배율 광학현미경 시야에서 적색을 띤 내피세포의 밀도가 가장 높은 부위들을 찾아 200x시야에서 3 군데를 촬영한 후(약 0.74mm²) 2인의 연구자가 각각을 동시에 세어서 이중 가장 높은 수치를 그 종 양의 미세혈관 밀도로 하였다. 이때 혈관내강이

없이 내피세포만이 존재하더라도 하나의 혈관으 로 간주하였으며, 적혈구가 6~8개 들어갈 정도의 비교적 큰 혈관과 염증부위의 혈관은 검사에서 제외하였다.

통계는 SPSS프로그램상의 Anova 법을 이용하 였고 생존율은 Kaplan-Meier 방법으로 분석하였으 며 Log rank 법을 이용하여 유의성을 검정하였는 데 p<0.05를 통계적 유의수준으로 하였다.

결 과

미세혈관 밀도는 19-128로 평균 56.3±18.0 이 었다. 병기 B에서 53.1, C에서 63.9이었고, 재발이 없었던 경우 53.1, 재발했던 경우 63.3이었으며, 5 년후 생존했던 경우 52.2, 5년내 사망의 경우 66.7 이었으나 통계학적인 의의는 없었다. 그 외 연령 별, 성별, 종양의 위치와 크기, CEA, 조직분화도, 림프절전이, 생존여부 에 따른 미세혈관 밀도의 차도 통계학적으로 의의가 없었다. 재발은 병기

Table 2. Comparison of 5 year survival rates between microvessel density (MVD) ≤56 group and >56 group on various clinicopathological factors in colorectal cancer (n=71)

		MVD ≤ 56		MVD > 56		P
		No. of cases	5 Y-S-R(%)	No. of cases	5 Y-S-R(%)	
Overall		33	84.9	38	60.5	0.0212
Age(year)	< 60	18	83.3	13	53.9	0.0162
	≥ 60	15	86.9	25	64.0	
Sex	Male	37	62.2	28	60.7	0.0236
	Female	10	50.0	8	37.5	
Location	Right	12	91.7	7	71.4	0.0405
	Left	7	100	12	58.3	
	Rectum	14	71.4	19	57.9	
Size	< 5 cm	18	83.3	17	35.3	NS
	≥ 5 cm	15	86.7	21	81.0	
Differentiation	Well	11	72.7	13	69.2	0.0227
	Moderately	20	90	23	60.9	
	Poorly	2	100	2	0	
Dukes'	B	28	82.1	22	77.3	NS
	C	5	100	16	37.5	
Recurrence		8	37.5	14	0	0.0178

B에서는 차이가 없었으나, 병기 C에서 재발이 없었던 11명의 미세혈관 밀도는 55.2 ± 16.9 , 재발이 있던 10명은 73.5 ± 12.5 이었다($P=0.012$)(Table 1).

미세혈관 밀도를 56 이하와 57 이상으로 두 군으로 나누어 5년생존율을 비교한 바 84.9% (33명), 60.5% (38명)로 밀도가 낮은 군이 생존율이 높았다. 연령, 성, 종양의 위치, 조직분화도를 같은 조건으로 했을 때 56이하군이 57이상군보다 5년생존율이 높았으며, 병기 C에서도 100% (5명), 37.5% (16명)로 차이가 있었다($P<0.05$)(Table 2).

고 찰

새로운 혈관이 종양의 생성, 성장, 전이에 중요하며 이런 맥관신생을 억제시키는 약제들의 투여에 의해 종양의 성장이 억제된다는 보고들이 계속되고 있는데, 혈관신생능은 미세혈관이나 bFGF 또는 TGF- β 1 등을 면역조직화학 염색을 하거나, 혈청과 소변에서 bFGF나 VEGF를 생화학적으로 측정하거나, magnetic resonance spectroscopy, color Doppler ultrasound, 종양의 bromodeoxyuridine labeling과 조직검사 등으로 측정할 수 있다. 미세혈관을 측정하는데는 fVIII-RA항체, JC-70(혈소판/내피세포 부착분자)에 대한 CD-31항체, CD-34항체, TEC-11항체, MAb E9들을 이용한다. 보다 큰 혈관에 염색되고 림프관의 내피세포에도 염색되는 fVIII-RA항체에 비해 CD-31항체는 형질세포와 강하게 반응하는 성질때문에 형질세포침윤이 있는 부위를 피해 염색하면 종양내 미세혈관 검출에 가장 민감하여 측정되는 밀도가 fVIII 항체를 이용한 검사시보다 1/3가량 더 높을 정도로 현재 가장 유용하다. 미세혈관 밀도 측정은 가장 미세혈관이 풍부한 세 부위에서 하며 200x 광학현미경 시야의 충분한 면적($0.74 \sim 1.00 \text{ mm}^2$)에서 2명의 검사자가 동시에 수를 세어 일치해야 하는데 이중 가장 높은 수를 미세혈관 밀도로 하거나 또는 자동측정기를 이용하여 측정한다.^{5,18}

이런 미세혈관 밀도와 다른 임상병리적인 인자들과의 관계나 예후와의 관계에 대해서는 여러

종류의 암들에서 다양하게 보고되고 있다. 유방암 특히 조기유방암에서 맥관형성이 많은 경우 예후가 나쁘다 하며 맥관형성 억제제를 이용하여 전통적인 치료에 안 듣는 암을 치료하려는 시도가 진행중이고,^{5,18,19} 0.75 mm 이하 침범한 악성 흑색종에서는 미세혈관 밀도가 높은 경우 전이가 많고 예후가 불량하나 0.75 mm 이상에서는 예후와의 관계가 통계학적으로 의의가 없었고,⁶ 진행된 난소암에서 맥관신생능이 무환생존율의 좋은 예측자가 될 수 있으며,⁷ 위암에서 Maeda등¹³은 림프절전이나 간재발이 있었던 경우 미세혈관밀도가 높았고 미세혈관밀도가 높았던 경우 5년생존율이 낮았으나 임등⁹ 및 이등¹²은 5년생존율과 관계가 없다고 하였다.

대장의 정상점막, 선종, 암에서 미세혈관 밀도를 비교하였더니 암종으로 진행할수록 미세혈관 밀도가 점차 의의있게 증가하였다.^{1,10} 현등⁸은 맥관신생점수가 종양의 크기, 종양내 혈관침습, 림프절전이, 간전이, 병기, 3년생존율과 관계가 있고 재발율은 차이가 있으나 통계적 유의성은 없었다 하였고, 주등²은 림프절전이 및 병기와 관계가 있다고 하였다. 전이가 있는 대장암에서 없었던 경우보다 미세혈관 밀도가 높고 예후인자가 될 수도 있을 것이라는 보고¹⁶가 있으며, 종양의 크기, 림프절전이, 맥관침범, 재발과 관계가 있고, 미세혈관수가 많은 군에서 예후가 나쁘다는 보고¹⁷도 있으며, 같은 듀크씨 병기일 때 재발을 예측하는데 이용될 수 있다.³ 그러나 종양의 크기나 예후와 관계가 없다는 보고¹⁴도 있다. 유등²⁰은 듀크병기 B와 C를 대상으로 했을 때 종양의 크기, 분화도, 수술전 암태아성 항원치, 듀크병기에 따른 맥관형성수의 차이는 없었고, 전체 군에서 예후와도 관계가 없었으나 B병기에서 맥관형성수가 많을수록 재발이 많으며 생존율의 현저한 저하가 관찰되었다 하고, 또한 조기대장암의 경우에서도 점막종양군보다 점막하층 종양군에서 신생혈관이 많았지만 통계학적인 의의는 없었다 하였다.¹¹ 저자들의 경우 다른 인자들과는 관계가 없고 병기 C에서 재발이 있던 군에서 미세혈관 밀도가 높고, 미

세혈관 밀도가 낮은 군에서 5년생존율이 높았다.

이런 결과들의 차이는 첫째 혈류가 풍부하게 공급되는 장기에서는 종양의 성장과 확산이 기존 혈관들에 의해 촉진될 수 있어서 허, 간, 피부, 콩팥, 위장관같은 혈관이 많은 장기들에 발생하는 종양을 지닌 환자들에서는 미세혈관 밀도와 암의 침습정도나 림프절전이와 관계없이 나타나기도 하여 예후를 예측하는데도 미세혈관 밀도가 유용할 수도 하지 않을 수도 있고, 둘째 진단시 인간 종양은 이질성을 지니고 침습과 전이 등에 상이한 생물학적 특성을 지닌 세포 아군집들로 구성되어 있고 종양내의 맥관형성능도 종양 증식율과 마찬가지로 불균질하며, 셋째 전이란 순차적이고 선택적이며 연관되어 있으면서도 독립적인 과정들로 이루어져 있어 종양세포들이 심한 맥관형성을 유도하더라도 순환계내나 원격장기내서 생존할 수 없는 경우도 있기 때문이 아닌가 사료된다.^{4,18}

요약 및 결론

대장암에서 미세혈관 밀도는 다른 인자들과는 상관관계가 없었으나 병기 C에서 재발한 환자에서 재발이 없었던 환자보다 밀도가 높았으며, 미세혈관 밀도를 56 이하와 57 이상의 두 군으로 나누어 5년생존율을 비교할 때 전체 군 및 병기 C에서 밀도가 낮은 군에서 생존율이 높고, 연령, 성, 종양의 위치, 조직분화도를 같은 조건으로 했을 때 밀도가 낮은 군에서 생존율이 높아 미세혈관 밀도는 예후와 어느정도 연관이 있는 것으로 보여진다.

REFERENCES

1. Bossi P, Viale G, Lee AK, Alfano R, Coggi G, Bosari S. Angiogenesis in colorectal tumors: microvessel quantitation in adenomas and carcinomas with clinicopathological correlations. *Cancer* 1995; 55: 5049.
2. Chu YC, Kim JM. Correlation between tumor angiogenesis (Microvessel Density), Metastasis and tumor cell proliferation in colorectal carcinomas. *J Korean*

3. Engel CJ, Bennett ST, Chambers AF, Doig GS, Kerkvliet N, O'Malley FP. Tumor angiogenesis predicts recurrence in invasive colorectal cancer when controlled for Dukes staging. *Am J Surg Pathol* 1996; 20: 1260.
4. Fidler IJ. Molecular biology of cancer: Invasion and metastasis. In DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds (5th ed). 135, Lippincott-Raven, Cancer principles & practice of oncology, 1997.
5. Gasparini G, Harris AL. Clinical importance of the determination of tumor angiogenesis in breast carcinoma. Much more than a new prognostic tool. *J Clin Oncol* 1995; 13: 765.
6. Graham CH, Rivers J, Kerbel RS, Stankiewicz KS, White WL. Extent of Vascularization as a prognostic indicator in thin (<0.76 mm) malignant melanomas. *Am J Path* 1994; 145: 510.
7. Hollingsworth HC, Kohn EC, Steinberg SM, Rothenberg ML, Merino MJ. Tumor angiogenesis in advanced stage ovarian carcinoma. *Am J Path* 1995; 147: 33.
8. Hyun MS, Choi HJ, Jung GH, Kim SS, Hong SH. Tumor angiogenesis as a prognostic assay for patients with colorectal carcinoma. *KSCP* 1997; 13: 161.
9. Im SA, Lee SN, Kim SS. Tumor angiogenesis as a predictor of prognosis in gastric carcinoma. *J Korean Cancer Assoc* 1997; 29: 640.
10. Jang TJ, Kim JR, Bae HI. Microvessel quantification, expression of p53 protein and MIB-1 colorectal adenoma and carcinoma. *J Korean Pathol* 1997; 31: 40.
11. Kim YM, Kang GH, Yang SK, Yu CS, Kim JC. Microvessel count and overexpression of p53 in early colorectal cancer. *J Korean Cancer Assoc* 1998; 30: 80.
12. Lee JK, Moon H. The prognostic significance of tumor microvessel density in gastric carcinoma. *J Korean Cancer Assoc* 1998; 30: 632.
13. Maeda K, Chung Y-S, Takasuka S, Ogawa Y, Onoda N, Sawaka T, et al. Tumor angiogenesis and tumor cell proliferation as prognostic indicators in gastric carcinoma. *Br J Cancer* 1995; 72: 319.
14. Mooteri S, Rubin D, Leurgans S, Jakate S, Drab E, Saclarides T. Tumor angiogenesis in primary and metastatic colorectal cancers. *Dis Colon Rectum* 1996; 39: 1073.
15. Schwartz: 7th ed. 313, McGraw-Hill, Principles of surgery, 1998.
16. Takahashi Y, Kitadai Y, Bucana CD, Cleary KR, and

- Eills LM. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR, correlates with vascularity, metastasis, and proliferation of human colon cancer. *Cancer Res* 1995; 55: 3964.
17. Takebayashi Y, Akiyama S, Yamada K, Akiba S, Aikou T. Angiogenesis as an unfavorable prognostic factor in human colorectal carcinoma. *Cancer* 1996; 78: 226.
 18. Weidner N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. *Ame J Path* 1995; 147: 9.
 19. Weidner N, Folkman J, Pozza F, Bevilacqua, Allred EN, Moore DH, et al. Tumor Angiogenesis: A new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1875.
 20. Yu CS, Lee KH, Lee HI, Kim YM, Gong GY, Kim JC. Correlation between angiogenesis degree & recurrence of colon cancer. *Kor J Gastroenterol* 1997; 30: 187.
-