

자궁경부암종에서 신생혈관 형성과 증식세포 핵항원 및 Ki-67 표지지수의 예후적 의의

한양대학교 의과대학 병리학교실 및 세종대학교 응용통계학과*

박 찬 필 · 박 문 향 · 이 승 연*

The Prognostic Significance of Tumor Angiogenesis, Proliferating Cell Nuclear Antigen(PCNA), and the Ki-67 Index in Carcinoma of the Uterine Cervix

Chan-Pil Park, M.D., Seung-Yon Lee, Ph.D.* and Moon-Hyang Park, M.D.

Department of Pathology, Hanyang University
Department of Applied Statistics, King Sejong University*

Angiogenesis, the induction of new capillaries and venules, is associated with tumor growth. This study was designed to determine whether cervical carcinomas are angiogenic, and to investigate whether tumor angiogenesis can serve as a prognostic factor in cervical carcinoma. Surgical specimens of 47 cervical carcinomas were immunohistochemically stained specifically for endothelial cells with factor VIII-related antigen to identify all vessels. Microvessels were counted from photographs of 200× microscopic fields. In addition, thirty-seven cases were studied by immunohistochemical means using the monoclonal antibodies for PCNA and for Ki-67 to determine tumor cell proliferation rates in cervical carcinomas. The microvessel count(MVC), the PCNA labelling index, and the Ki-67 index were calculated and compared with known prognostic factors and disease free survival rates in cervical carcinomas. A wide range in the MVC count(range 12~100 mean=38.2±19.2), the PCNA labeling index(8~69% mean=33.6±15.2%), and in the extent of Ki-67 staining(0~43% mean=10.3±10.5%) was observed, indicating considerable variation of tumor angiogenic activity and tumor growth rates. This study showed statistically significant correlations in disease free survival rates with both lymph node status and the microvessel count. However, there was no significant difference in disease free survival rates between tumor stage, age, the PCNA labelling index, and the Ki-67 index. (**Korean J Pathol 1997; 31: 1~14**)

Key Words: Cervical carcinoma, Angiogenesis, PCNA labelling index, Ki-67 index

접 수: 1996년 5월 20일, 게재승인: 1996년 11월 12일
주 소: 서울시 성동구 행당동 17번지, 우편번호 133-792
한양대학교 의과대학 병리학교실, 박문향

도가 전이의 가능성을 예측할 수 있다는 정량적 근거는 피부의 악성 흑색종에서 처음으로 보고 되었다^{14,41,42}.

종양세포에서 맥관형성능(angiogenic activity)의 시작은 종양의 전 과정에서 아주 다른 시기에 일어날 수 있다. 예를 들면 자궁경부암은 종양이 생기기 이전에 맥관형성이 생기며, 방광암과 유방암에서는 종양과 동시에, 그리고 악성 흑색종과 복강내에 착상된 난소암에서는 종양 발생 이후에 맥관형성이 이루어 진다고 하였다¹³. 유방암의 상피내 암종과 전암성 방광 병변 등은 전암단계에서도 신생혈관 형성을 보인다⁴⁰. 그러나 자궁경부의 이형성증 및 상피내 암종에서 신생혈관의 형성에 관한 연구는 매우 드물다. Smith-McCune과 Weidner¹⁸는 23예를 연구하였는데 염증의 정도와 무관하게 저급 자궁경부 상피내 종양(CIN I)에서 보다 더 진행된 고급 자궁경부 상피내 종양(CIN III)에서 통계학적으로 유의하게 높은 MVC 치를 보여 전암성 병변에서도 신생혈관을 형성하는 현상이 나타나서 암으로의 진행을 촉진할 것을 시사하였다. Sillman등⁴¹은 질경(colposcopy)을 통해 관찰되는 비정형 혈관의 출현과 자궁경부의 이형성증, 상피내 암종과 침윤성 암종과의 연관성을 연구하였다. 그들은 이형성증에서는 비정형 혈관이 관찰되지 않으나 자궁내 상피암종에서는 2.8%, 미세 침윤성 암종에서는 과반수, 침윤성 암종에서는 모든 예에서 비정형 혈관을 관찰할 수 있다고 하였다. 이러한 미세혈관의 육안적 소견을 반영하는 질경상의 결과는 현미경적으로 확인되는 MVC와 밀접한 관계를 나타낼 것이다. 그들은 자궁경부 신생물의 침윤 여부와 질경에서 관찰되는 비정형 미세혈관의 출현이 암형성 기전을 이해하는데 중요하다고 하였다. 또한 Wiggins등¹⁷은 29명의 자궁경부 편평세포 암종에서 MVC가 56 ± 28.9 로 대조군(16.3 ± 3.3)에 비해 유의하게 증가되었다고 하였다. 그러나 MVC가 림프절 전이, 자궁방조직 침범, 종양의 침윤 깊이, 혹은 종양의 육안적 형태와는 무관하였으나, 단지 혈관강내 침범과는 유의한 상관관계를 보였다. 1년 내에 재발한 4명의 환자는 높은 MVC를 나타냈으나, 수술 당시는 림프절 전이가 없었고 혈관강내 침범도 없었다. 그러므로 재발할 다른 위험 인자가 없는 환자에서 MVC는 예후에 관계가 있다고 주장하였다.

저자는 자궁경부암종이 주변조직에 신생혈관 형성을 유도하는지를 알아보려고 MVC치를 조사하였으며 MVC치가 지금까지 알려진 여러 예후인자들과 비교하여 어떤 연관성이 있는지를 알아보고, 연구대

상 환자의 추적조사 결과와 비교하여 무병생존율에 영향을 미치는지 알아보려고 본 연구를 시행하게 되었다. 본 연구에서의 MVC치는 평균 39.2 ± 19.2 로 Wiggins등¹⁷보다 낮은 이유는 본 연구에서는 200배 시야에서 사진을 찍고 그 수를 세었기 때문에 계산 면적이 약 1.8배 차이가 난다. 그들의 평균치를 1.8로 나누면 31.11이므로 본 연구의 평균치와 비슷하고 본 연구의 평균치에 1.8을 곱하면 68.78로 약간 높은 수치를 나타낸다. 교정하지 않고 통계학적으로 비교한 결과 본 연구에서도 MVC 수가 높아질 수록 재발의 위험률(8.594)이 높아지고 이를 평균값을 중심으로 나누어서 비교하여도 역시 유의하게 차이를 보여 MVC의 수치는 예후인자로서 유효하다고 생각 된다.

PCNA는 핵내의 비히스톤 단백질(nonhistone protein)으로 분자량이 36kd이다. 이는 DNA polymerase를 증대 시키므로써 세포 증식을 일으키는 역할을 한다. PCNA의 치는 S-G₂와 M phase에서 증가하므로 Ki-67 항원과 거의 비슷하게 작용하며 PCNA의 표현은 종양의 분화도와 핵분열 수에 광범위한 연관성을 보인다. 모든 악성 종양에서 낮게는 10%에서 높게는 거의 100%까지 다양하게 양성으로 나타나며 PCNA 양성 세포가 50% 이상이면 대개 예후가 나쁘다고 하였다⁴². Formalin에 고정된 조직에서는 유세포 측정으로 연구된 성장 분획(growth fraction)보다 높은 비율로 나타나는데 이는 PCNA의 긴 반감기를 반영하거나 또는 증식과 무관한 핵질 PCNA를 감지하기 때문일 것이다²⁵. PCNA에 대한 면역조직화학 염색은 bromodeoxyuridine (BrdU) 또는 ³H-thymidine labelling index, Ki-67 염색 등과 아울러 세포의 증식능을 측정하는 방법으로 많이 이용되고 있고 특히 위암⁴³, 유방암⁴⁴, 폐암⁴⁵, 대장암⁴⁶, 간암⁴⁷, 자궁경부의 전암병변과 암종^{21-23,48,49} 등에서 예후 인자로서 연구되었다. PCNA 표지 지수는 자궁경부의 상피내 종양(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)과 상피내 암종을 구분하는데 유용하며²³ 자궁경부 상피내 종양(CIN) 등급에 따라 유의한 차이를 나타내었다^{22,49}. Oka등²¹은 194명의 방사선 치료를 시행한 stage III 자궁경부 편평세포 암종에서 PCNA 표지 지수와 예후간에 유의한 상관관계가 있으며 PCNA는 예후예측인자로서 유용하다고 하였다. 본 연구에서는 PCNA 표지 지수가 상당히 넓게 분산되어 있었고 평균 PCNA 표지 지수는 병기에 따라 다소 증가되었으나 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 무병생존율과도 유의한 상관관계를 나타내지 않았다.

면역조직화학적 염색에 의한 Ki-67 표지 지수에

대해서도 여러 종양들에서 연구되어 지고 있다⁴⁸. Gerdes등⁵⁰은 유방암에서 종양세포의 성장도를 나타내는 Ki-67 양성률을 16예의 유방암과 30예의 양성 유방병변에서 연구하였는데 평균 지수가 유의한 차이를 보였고, 유방암의 분화도에 따라서 Grade I에서 9%, Grade II에서 16%, Grade III에서 26%로 차이가 있었다. 그러나 각각의 예는 넓게 분산되어 분포되었다. 또한 연부조직의 육종에서도 종양의 조직학적 분화도와 Ki-67 지수가 연관성이 있음이 보고되었다⁵¹. 폐암종에서 Ki-67에 대한 면역조직화학적 염색의 결과와 DNA ploidy 간의 관계를 연구하였는데 Ki-67 표지 지수가 종양의 성장 능력을 잘 반영하였고, 특히 종양이 hypoploidy와 multiploidy인 경우에서 Ki-67의 표지 지수가 현저히 높아 ploidy와 Ki-67을 이용한 성장도의 결정이 병기와는 독립적인 예후인자로서 의의가 있다고 하였다⁵². Raymond등⁵³은 양성 전립선에서는 평균 Ki-67 수가 4%인데 반해 전립선 암종에서는 16.3%로 현저히 차이가 있고, Ki-67 지수는 조직학적 분화도와도 유의한 연관성이 있다고 보고하였다. 자궁경부암종에서 Ki-67을 이용한 몇몇 연구들이 있다⁵⁴. Chung등²⁴은 Ki-67의 수치가 높을 수록 조기 재발을 일으켰다고 하였다. 자궁경부암종에서 Ki-67 표지 지수는 정상 자궁조직에 비해 유의한 차이로 높게 나타났으나 조직학적 유형에 따른 차이는 없다고 하였다^{55,56}.

본 연구에서 Ki-67 표지 지수는 그 수치가 0%에서 43%까지로 비교적 낮은 수치를 나타내었고, 평균 수치보다 낮은 군과 높은 군으로 나누어 무병생존율을 비교하여도 역시 반대로 나타났으나 통계학적으로 유의하지는 않았다. 또한 Log Ki-67로 나타낸 수치로 비교하였을 경우에도 역시 비슷한 결과를 보였다. 이는 조직 표본의 크기나 항원의 보관 상태와 표본선택 또는 면역조직화학 염색방법 등의 문제로 생각되었다. 그러나 이를 연령과 같이하여 분석한 상호작용 효과(interaction effect)를 보면 위험률이 매우 높아져서(40.378), 이에 대한 결과의 해석이 매우 어렵다. 통계학적으로 유의한 차이도 없으므로 앞으로 이에 대한 더 많은 예들이 연구되어야 할 것으로 생각된다.

결 론

자궁경부암에서 종양의 신생미세혈관 형성 정도(MVC) 및 종양세포의 증식능력을 간접적으로 알기 위하여 PCNA 및 Ki-67 항원에 대한 면역조직화학 염색으로 양성인 암종세포의 핵의 수를 백분율화하

여 각 인자를 지수화하였다. 이를 각 예후인자 즉 연령, 병기, 림프절 전이 등과 환자의 추적조사 결과로 얻은 무병생존율과의 상관관계를 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 자궁경부암 환자의 연령 분포는 26세에서 63세 사이였고 50대 후반에 가장 많이 분포되었으며 평균 47.2 ± 10.8 세였다.

2) 환자의 병기는 FIGO stage Ib 6예, IIa 10예, IIb 21예, IIIa 1예, IIIb 8예, IVa 1예로 IIb가 44.7%로 가장 많았다.

3) 자궁경부 암종 환자의 무병생존기간(disease free survival)은 평균 53 ± 26.2 개월(12~116)이었다.

4) 연구대상 47예중 44예가 편평세포암종으로 이중 비각화세포형(nonkeratinizing type) 암종이 가장 많았다.

5) 림프절 전이는 47예중 21예(44.7%)에서 관찰되었고, 26예(55.3%)에서는 전이가 없었다. 림프절 전이가 있었던 21예중 10예(47.6%)가 재발 또는 사망하였으나 림프절 전이가 없는 26예중 1예(3.8%)만이 사망하여 유의한 차이를 보였다($P=0.0003$).

6) 자궁경부암종에서 미세혈관수(MVC)의 평균치는 38.2 ± 19.2 였다(12~100). 평균치보다 낮은 군이 22명이었고 이중 4명(18.2%)이 재발 또는 사망하였고, 평균치보다 높은군이 25명으로 이중 8명(32%)이 재발이나 사망하였다. 그러나 두군간의 차이는 통계학적으로 유의하지 않았다($P=0.1116$).

7) PCNA 지수는 광범위하게 분포되어 있었고(8%~69%), 이중 30%에서 39% 사이에 12예로 가장 많이 분포되어 있었다. PCNA 지수의 평균은 $33.6 \pm 15.2\%$ 였다. 평균치를 기준으로 두군으로 나누어 비교한 결과 통계학적으로 유의한 차이가 없었다($P=0.4399$).

8) Ki-67 표지 지수는 0에서 43%까지 다양하며 평균 $10.3 \pm 10.5\%$ 였다. 평균치를 기준으로 두군으로 나누어 비교한 결과 통계학적으로 유의한 차이가 없었다($P=0.5020$).

9) 각 예후인자들과 무병 생존율(disease free survival) 간의 상관관계를 보면 연령, 병기, 림프절 전이 여부, MVC, PCNA 지수, Ki-67 표지 지수 중 림프절 전이 여부와 MVC가 유의한 상관관계를 나타내었고, 연령, 병기, PCNA 지수와 Ki-67 표지 지수에서는 통계학적 유의성은 없었다.

10) Cox의 비례 위험 모형(PHREG procedure)을 이용한 분석에서 각각의 주된 효과(main effect)에 대한 위험률(risk ratio)을 보면 림프절 전이 유무는 위험률이 49.120로 가장 높았다. 또한 Log MVC와 연령

은 각각 위험률이 8.594와 1.125였다. 연령 변수를 각 인자들에 적용시켜 분석한 결과 Log Ki-67은 위험률이 40.378로 상당히 높게 나타났으나 통계학적 유의성은 없었다.

결론적으로, 이상의 결과를 종합하면 자궁경부암 종에서 림프절 전이여부와 MVC는 유의한 예후 예측인자임을 알 수 있다.

참 고 문 헌

- Inoue T, Okumura M. Prognostic significance of parametrial extension in patients with cervical carcinoma stage Ib, IIa, and IIIb. *Cancer* 1984; 54: 1714-9.
- Piver M, Chung W. Prognostic significance of cervical lesion size and pelvic node metastases in cervical carcinoma. *Obstet Gynecol* 1975; 46: 507-10.
- Van Nagell J, Donaldson E, Parker J. The prognostic significance of cell type and lesion size in patients with cervical cancer treated by radical surgery. *Gynecol Oncol* 1977; 5: 142-51.
- Hsu CT, Cheng YS, Su SC. Prognosis of uterine cervical cancer with extensive lymph node metastasis. *Am J Obstet Gynecol* 1972; 114: 954-62.
- Gauthier P, Gore I, Shingleton HM. Identification of histopathologic risk groups in stage Ib squamous cell carcinoma of the cervix. *Obstet Gynecol* 1985; 66: 569-74.
- Boyce J, Fruchter RG, Nicastrì AD. Prognostic factors in stage I carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 1981; 12: 154-65.
- Minucci D, Cinel A, Arslan Pagnini C, et al. Prognostic evaluation in uterine cervix carcinoma in relation to the lymphoplasmacyte infiltrate and to the cytohistologic type. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1980; 7: 185-93.
- Tosi P, Cintonino M, Santopietro R, et al. Prognostic factors in invasive cervical carcinomas associated with human papillomavirus (HPV): Quantitative data and cytokeratin expression. *Path Res Pract* 1992; 188: 866-73.
- Kodama S, Kanazawa K, Honna S, Tanaka K. Age as a prognostic factor in patients with squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Cancer* 1991; 68: 2481-5.
- Mahadevan V, Hart IR. Metastasis and angiogenesis: *Acta Oncol* 1990; 29: 97-103.
- Folkman J, Merler E, Abernathy C, Williams G. Isolation of a tumor factor responsible for angiogenesis. *J Exp Med* 1971; 133: 275-88.
- Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. *Science* 1987; 235: 442-7.
- Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 4-6.
- Weinder N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis correlation in invasive breast carcinoma. *N Eng J Med* 1991; 324: 1-8.
- Srivastava A, Laidler P, Hughes LE, Woodcock J, Shedden EJ. Neovascularization in human cutaneous melanoma: a quantitative morphological and Doppler ultrasound study. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1986; 22: 1205-9.
- Yamaoka M, Yamamoto T, Ikeyama S, Sudo K, Fujita T. Angiogenesis inhibitor TNP-470(AGM-1470) potently inhibits the tumor growth of hormone-independent human breast and prostate carcinoma cell lines. *Cancer Res* 1993; 53: 5233-6.
- Wiggins DL, Granai CO, Steinhoff MM, Calabresi P. Tumor angiogenesis as a prognostic factor in cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 1995; 56: 353-6.
- Smith McCune KK, Weidner N. Demonstration and characterization of the angiogenic properties of cervical dysplasia. *Cancer Res* 1994; 54: 800-4.
- Jakobsen A, Bichel P, Kristensen GB, Nyland M. Prognostic influence of ploidy level and histopathologic differentiation in cervical carcinoma stage IB. *Eur J Cancer* 1988; 24: 969-72.
- Strang P, Eklund G, Stendahl U, Frankendal B. S-phase rate as a predictor of early recurrences in carcinoma of the uterine cervix. *Anticancer Res* 1987; 7: 807-10.
- Oka K, Hoshi T, Arai T. Prognostic significance of the PC10 index as a prospective assay for cervical cancer treated with radiation therapy alone. *Cancer* 1992; 70: 1545-50.
- Shurbaji MS, Brooks SK, Thurmond TS. Proliferating cell nuclear antigen immunoreactivity in cervical intraepithelial neoplasia and benign cervical epithelium. *Am J Clin Pathol* 1993; 100: 22-6.
- Kobayashi I, Matsuo K, Ishibashi Y, Kanda S, Sakai H. The proliferative activity in dysplasia and carcinoma in situ of the uterine cervix analyzed by proliferating cell nuclear antigen immunostaining and silver-binding argyrophilic nucleolar organizer region staining. *Hum Pathol* 1994; 25: 198-202.
- Chung TK, Cheung TH, Wong FW, Wong YF. Ki-67 and AgNORs staining in squamous cell carcinoma of the cervix: a comparison. *Gynecol Obstet Invest* 1994; 37: 127-9.

25. Dervan PA, Magee HM, Buckley C, Carney DN. Proliferating cell nuclear antigen counts in formalin fixed paraffin-embedded tissue correlate with Ki-67 in fresh tissue. *Am J Clin Pathol* 1992; 97(suppl 1): S21-8.
26. Gerdes J, Becker MH, Key G, Cattoretti G. Immunohistologic detection of tumor growth fraction(Ki-67) in formalin fixed and routinely processed tissue. *J Pathol* 1992; 168: 85-6.
27. Garcia RL, Coltrera MD, Gown AM. Analysis of proliferative grade using anti-PCNA/cyclin monoclonal antibodies in fixed, embedded tissues. *Am J Pathol* 1989; 134: 733-9.
28. Scully RE, Bonfiglio TA, Kurman RJ, et al. Typing female genital tract tumors, 2nd ed. Springer-Verlag. 1994, 44-7.
29. Boring CC, Squires TS, Tong T. Cancer statistic. *CA-cancer J Clin* 1994; 44: 7-26.
30. Martimbeau PW, Kjorstad KE, Iversen T. Stage Ib carcinoma of the cervix: the Norwegian Radium Hospital. II. Results when pelvic nodes are involved. *Obstet Gynecol* 1982; 60: 215-8.
31. Delgado G, Bundy B, Zaino R, et al. Prospective surgical-pathological study of disease free interval in patients with stage IB squamous cell carcinoma of the cervix: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 1990; 38: 352-7.
32. Alvarez RD, Soong S-J, Kinney WK, et al. Identification of prognostic factors and risk groups in patients found to have nodal metastasis at the time of radical hysterectomy for early stage squamous carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 1989; 35: 130-5.
33. Tinga DJ, Timmer PR, Bouma J, Aalders JG. Prognostic significance of single versus multiple lymph node metastases in cervical carcinoma stage IB. *Gynecol Oncol* 1990; 39: 175-80.
35. Van Nagell J, Donaldson E, Wood E, Parker J. The significance of vascular invasion and lymphocytic infiltration in invasive cervical cancer. *Cancer* 1978; 41: 228-34.
36. Gimbrone NA, Leapman SB, Cotran RS, Folkman J. Tumor dormancy in vivo by prevention of neovascularization. *J Exp Med* 1971; 136: 261-76.
37. Folkman J. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971; 285: 1182-6.
38. Crum R, Szabo S, Folkman J. New class of steroids inhibits angiogenesis in the presence of heparin or a heparin fragment. *Science* 1985; 230: 1375-8.
39. Rastinejad F, Polyverini PJ, Bouch NP. Regulation of the activity of a new inhibitor of angiogenesis by a cancer suppressor gene. *Cell* 1989; 56: 345-55.
40. Chodak GW, Haudenschild C, Gittes RF, Folkman J. Angiogenic activity as a marker of neoplastic and preneoplastic lesions of the human bladder. *Ann Surg* 1980; 192: 762-71.
41. Sillman F, Boyce J, Fruchter R. The significance of atypical vessels and neovasucularization in cervical neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 139: 154-9.
42. Taylor CR, Cote RJ. Immunomicroscopy: A diagnostic tool for the surgical pathologist, 2nd ed. W.B. Saunders 1994, 83
43. Ohyama S, Yonemura Y, Muiyazaki I. Proliferative activity and malignancy in human gastric cancers; significance of the proliferation rate and its clinical application. *Cancer* 1992; 69: 314-21.
44. Leonardi E, Girkando S, Serio G, et al. PCNA and Ki-67 expression in breast carcinoma; correlations with clinical and biological variables. *J Clin Pathol* 1992; 45: 416-9.
45. Theunissen PHMH, Leers MPG, Bollen ECM. Proliferating cell nuclear antigen(PCNA) expression in formalin-fixed tissue of non-small cell lung carcinoma. *Histopathol* 1992; 21: 251-5.
46. All-sheneber IF, Shibata HR, Sampalis J, Jothy S. Prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen expression in colorectal cancer. *Cancer* 1992; 13: 117-26.
47. Kawakita N, Seki S, Sakaguchi H, et al. Analysis of proliferating hepatocytes using a monoclonal antibody against proliferating cell nuclear antigen/cyclin in embedded tissue from various liver disease fixed in formaldehyde. *Am J Pathol* 1992; 140: 513-20.
48. Raju GC. Expression of the proliferating cell nuclear antigen in cervical neoplasia. *Int J Gynecol Pathol* 1994; 13: 337-41.
49. Cardillo MR, Stamp GW, Pignatelli MN, Lalani EN. Immunohistochemical analysis of p53 oncoprotein and proliferating cell nuclear antigen(PCNA) in the cervix uteri. *Eur J Gynecol Oncol* 1993; 14: 484-90.
50. Gedes J, Lelle RJ, Pickartz H, et al. Growth fractions in breast cancers determined in situ with monoclonal antibody Ki-67. *J Clin Pathol* 1986; 39: 977-80.
51. Ueda T, Aozasa K, Tsujimoto M, et al. Prognostic significance of Ki-67 reactivity in soft tissue sarcomas. *Cancer* 1989; 63: 1607-11.
52. Simony J, Pujol JL, Radal M, Ursule E, Michel FB, Pujol H. In situ evaluation of growth fraction determined by monoclonal antibody Ki-67 and ploidy in surgically resected non-small cell lung cancers. *Cancer Res* 1990; 50: 4382-7.
53. Raymond WA, Leong AS-Y, Bolt JW, Millios J, Jose

- JS. Growth fraction in human prostatic carcinoma determined by Ki-67 immunostaining. *J Pathol* 1988; 156: 161-7.
54. Brown DC, Cole D, Gatter KC, Mason DY. Carcinoma of the cervix uteri: an assessment of tumor proliferation using the monoclonal antibody Ki-67. *Br J Cancer* 1988; 57: 178-81.
55. Yoshinouchi M. Immunohistochemical approach to reveal the growth potential of uterine cancers using anti-BrdU antibody and Ki-67. *Nippon Gan Chiryō Gakkai Shi* 1989; 24: 2513-21.
56. Masuda T, Yabushita H, Sawaguchi K, Noguchi M, Nakanishi M. Immunohistochemical assessment of the growth fraction in cervical cancers using the monoclonal antibody Ki-67: relationship to the clinical stage, histologic type and DNA content. *Asia Oceania J Obstet Gynaecol* 1992; 18: 81-7.
-

서 론

자궁 경부 암종은 우리나라 여성에 가장 흔히 발생하는 암으로 그 임상적 특징 및 발암 과정이 다른 종양에 비해 비교적 잘 알려져 있다. 또한 종양의 예후와 관련된 인자로는 임상적 병기, 종양의 세포유형, 분화도, 크기 및 임파절 전이 등이 있으며 이들 인자들에 대해서는 많이 연구되고 있다¹⁻⁶. 그 외에도 자궁내막의 침윤 여부, HPV-16 감염의 동반, 종양주변에 림프구 및 형질세포 침윤, 치료방법, 환자의 연령 등이 예후에 영향을 미치는 것으로 보고되어 있다⁷⁻⁹.

악성 종양의 주변 조직에 맥관형성(angiogenesis)은 종양의 성장, 침윤과 전이에 밀접한 영향을 가지고 있다¹⁰. 1971년 Folkman등¹¹은 악성 종양에서 종양혈관 형성인자(tumor angiogenesis factor, TAF)를 분리하였고, 이는 혈관 내피세포의 분열을 유도하여 동물실험에서 빠르게 신생혈관 형성을 일으킨다고 하였다. 종양 성장을 위해서는 새로운 맥관형성이 필요하다는 개념을 도입한 후 여러 연구에서 유방암의 전이와 종양 주변에 신생 미세혈관의 수(microvessel count, MVC) 간에 유의한 상관관계가 있다고 주장하였다¹²⁻¹⁴. 종양 주변의 신생혈관 형성에 대한 연구는 피부의 악성흑색종과 폐암 등에서도 연구되었다¹⁵. 또한 종양의 신생혈관 형성을 억제함으로써 종양의 성장과 전이를 억제하여 치료에 응용하려는 연구들도 진행되어 왔다¹⁶. 그러나 자궁 경부의 이형성증 및 자궁 경부암에서는 종양의 신생혈관 형성에 대한 연구는 매우 드물다. Wiggins등¹⁷은 자궁 경부암에서 MVC가 림프절 전이상태, 자궁주위 조직의 침범과 종양 침습의 깊이나 종양의 육안적 소견들과는 무관하나 MVC가 혈관내 종양의 침범(vascular space involvement)과는 유의한 관계가 있다고 하였다. 자궁경부 이외에도 유방의 상피내암종과 전립선 및 방광의 전암성 병변에서 소수의 연구가 있으며 자궁경부의 전암성 병변 역시 신생혈관을 형성한다는 보고가 있다¹⁸. 그러나 자궁경부 암종에서는 소수에서만 연구되었고 유방암에서 처럼 예후 인자로서 MVC가 유용한지에 대해서는 아직 정립된 연구가 없어서 본 연구를 시도하게 되었다.

종양 주변의 신생 혈관의 형성 이외에도 악성 종양의 생물학적 동태를 알기위한 방법으로 종양조직을 이용하여 DNA 유세포분석(flow cytometry)을 포함한 종양세포의 증식능력을 평가하는 여러 연구가 시도되고 있다^{19,20}. 종양세포들의 증식 능력을 평가

하여 종양의 성장을 간접적으로 알기위한 표지자로서 증식핵항원(proliferating nuclear antigen, PCNA)²¹⁻²³, Ki-67 표지수²⁴ 및 AgNOR^{23,24} 등에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 특히 PCNA나 Ki-67 발현 정도를 전암단계와 암종이 진행된 예들을 비교하거나 여러 암종에서 이들을 예후 예측인자로서 비교한 경우도 있다. Ki-67에 대한 면역조직화학적 염색을 위해서는 동결절편을 이용하여 왔으나 최근 Ki-67 유전자 산물에 대한 MIB1 단클론 항체를 사용하여 파라핀에 포매된 조직에서 염색이 가능하게 되었다²⁵⁻²⁷.

이에 저자들은 자궁경부암종에서 종양세포 주변에 MVC와 종양의 성장 분획을 보는 표지자로서 PCNA와 Ki-67에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하여 여러가지 임상 및 병리적 예후 인자들 간의 상관관계를 확인하고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

1984년 12월 1일부터 1993년 7월 30일까지 8년 8개월간 한양대학병원 조직병리과에서 진단된 자궁 경부암종 중 임상적인 추적조사 및 조직의 재검토가 가능하고 파라핀 블록이 충분한 47예를 선택하였고, 임상적 소견은 환자기록부를 참고하였다. 대조군으로 각 연령군에 해당하는 정상 자궁경부조직 5예를 선택하여 Factor VIII 관련 항원, PCNA, Ki-67 (MIB1) 항원에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하여 비교하였다.

2. 임상병력 검토 및 추적조사

환자의 기록부를 재검토하여 초음파 검사, 컴퓨터 단층촬영 등의 영상기록, 이학적 검사 및 수술소견 등의 결과로 임상적 병기를 FIGO stage에 따라 분류하였고 전자궁적출술로 얻어진 림프절의 검사결과에 따라 림프절 전이유무를 판단하였다. 추적조사는 1984년 12월부터 1995년 9월까지 하여 그 결과를 분석하였다.

3. 병리학적 검색

병리학적 소견은 재검토하여, 1994년 WHO 분류에 따라 종양을 분류하였고²⁸, 표본중 면역조직화학적 염색에 적합한 파라핀 블록을 선택하였다.

4. 면역조직화학적 검사

선택된 파라핀 포매 조직을 5 μ m 두께로 박절하

고 통상의 탈파리핀 및 탄수화물을 거친 뒤 factor VIII 관련항원, 증식세포 핵항원(PCNA) 및 Ki-67 항원에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하였다.

종양의 신생미세혈관 정도를 보기 위하여 통상적인 방법으로 제작된 절편을 검토한 후 종양이 가장 많이 포함된 절편의 파리핀 블록을 선택하였다. 혈관 내피세포의 표지자로는 Factor VIII 관련 항원에 대한 항체(DAKO PATTS A/S Denmark)를 사용하였다. 절편을 pepsin에 20분간 전처리한 후 수세하고, 3% 과산화수소로 5분간 처리하여 내인성 과산화수소의 작용을 억제시켰다. 증류수와 Tris 완충액(pH 7.6)으로 각각 수세한 후 1:100으로 희석한 Factor VIII 관련항원에 대한 항체에 30분간 반응시켰다. 그리고 LSAB kit(DAKO, Santa Barbara, CA, USA)를 이차항체로 사용하였으며, AEC chromogen(3-amino-9-ethylcarbazole)으로 발색한 후 Mayer's hematoxylin으로 20초간 대조 염색한 후 glycerin으로 봉입하였다. 소혈관 즉 세정맥 및 모세혈관이 가장 많이 관찰되는 부위를 선택하여 200배 광학 현미경 시야에서 사진 촬영한 후 미세혈관의 수(microvessel count, MVC)를 측정하였다(Fig. 1). 우선 세동맥 크기 이상의 혈관을 제외하고, 미세혈관수는 내강을 형성하지 않고 주위 혈관과 서로 연결이 없이 factor VIII 양성으로 염색되는 단독 혹은 소수의 세포들도 포함시켜서 모세혈관이나 세정맥의 수를 측정하였다.

증식세포 핵항원(PCNA)에 대한 염색은 종양세포

의 증식능력을 간접적으로 확인하기 위하여 시행하였다. 박절한 표본을 구연산 완충액(citrate buffer, pH 6.0)에 넣고 전자오븐(microwave oven)에서 5분간 3회 전처리한 후 실온에서 냉각시키고, 3% 과산화수소로 5분간 처리하여 증류수로 수세하였다. Tris 완충액(pH 7.6)으로 5분간 2회 수세하여 정상 염소 혈청(1:100)에 10분간 반응시킨 후 1:100으로 희석한 Anti-PCNA mouse 단클론 항체(PC10, DAKO PATTS A/S Denmark)를 사용하여 30분간 반응시켰다. 그리고 LSAB-kit(DAKO, Santa Barbara, CA, USA)를 이차항체로 이용하였으며, AEC chromogen으로 발색시키고, Mayer's hematoxylin에 20초간 대조 염색한 후 glycerin으로 봉입하여 현미경으로 관찰하였다. PCNA 발현정도를 판정하기 위하여 두명의 병리의사가 함께 표본을 관찰한 후 가장 대표적인 부위를 정하고 200배 시야에서 사진 촬영하여 주변 결핵조직과 뚜렷이 구별되는 강한 핵 염색상을 보이는 세포를 양성으로 판정하고, 1000개 이상의 종양세포를 세어 양성세포의 수를 백분율로 나타내었다(Fig. 2).

종양성장 분획(tumor growth fraction)을 면역조직화학적으로 확인하기 위해 재조합 Ki-67 유전자 산물(recombinant Ki-67 gene product)로 샘플에 면역시켜서 만든 MIB1 단클론 항체(BioGenex, San Ramon, CA, USA)를 사용하였다. PCNA와 동일한 방법으로 박절한 조직 표본을 전처리하고 1:20으로 희석한 Ki-67에 대한 MIB1 단클론항체를 사용하여 염색하

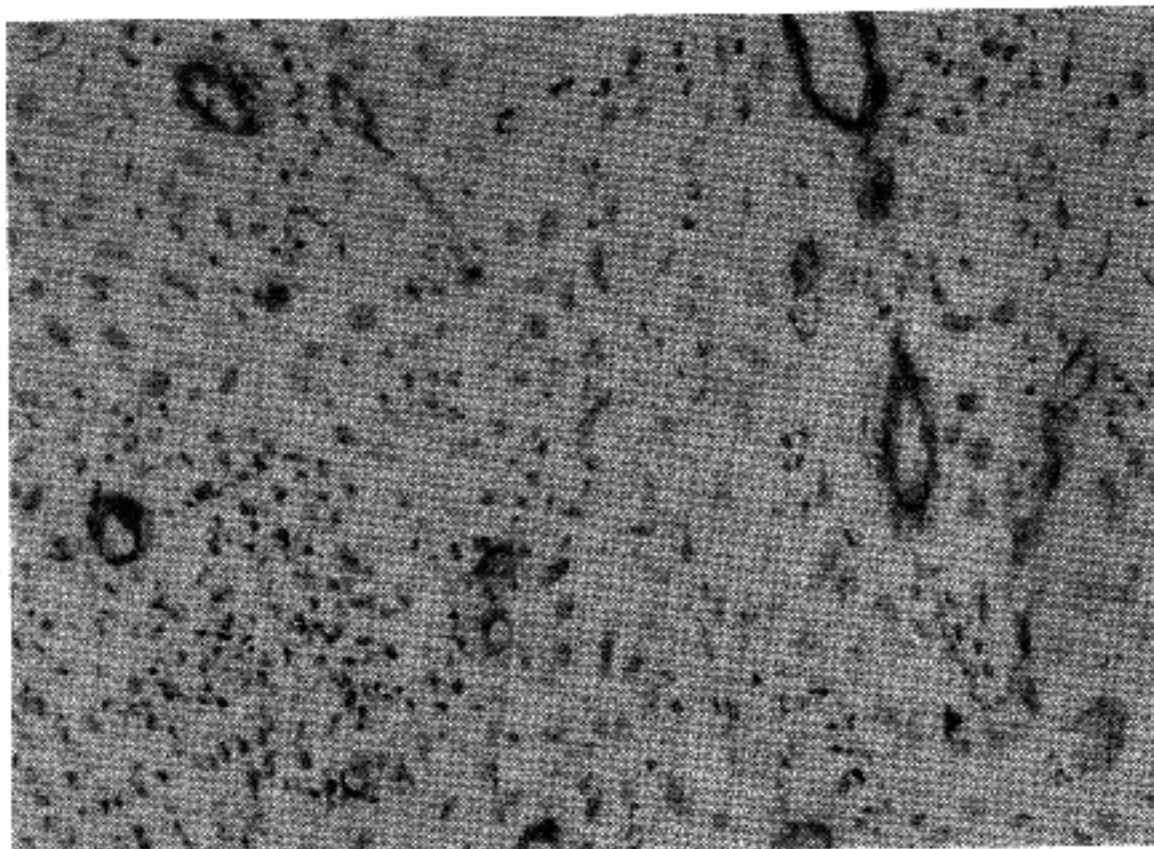


Fig. 1. Microvessels in area of large cell non-keratinizing type of squamous cell carcinoma. Immunostained with anti-Factor VIII-related antigen($\times 200$).

였다. Ki-67 양성인 종양세포의 수는 400배 시야에서 2~5개의 다른 부위를 사진 촬영한 후 종양세포 500개 이상을 세이시 이중에 뚜렷하게 적갈색으로 염색된 핵의 수를 백분율로 구하여 Ki-67 지수로 나타내었다(Fig. 3A & 3B). PCNA와 Ki-67에 대한 염색에서 종양의 크기가 적어서 충분한 종양의 수가

포함되지 않은 10예를 제외한 37예에 대한 결과를 분석하였다.

5. 통계학적 분석

1) 각 변수 (예후인자)에 대한 단변량 분석(univariate analysis): 연구된 자궁암 47예의 예후인자들 중

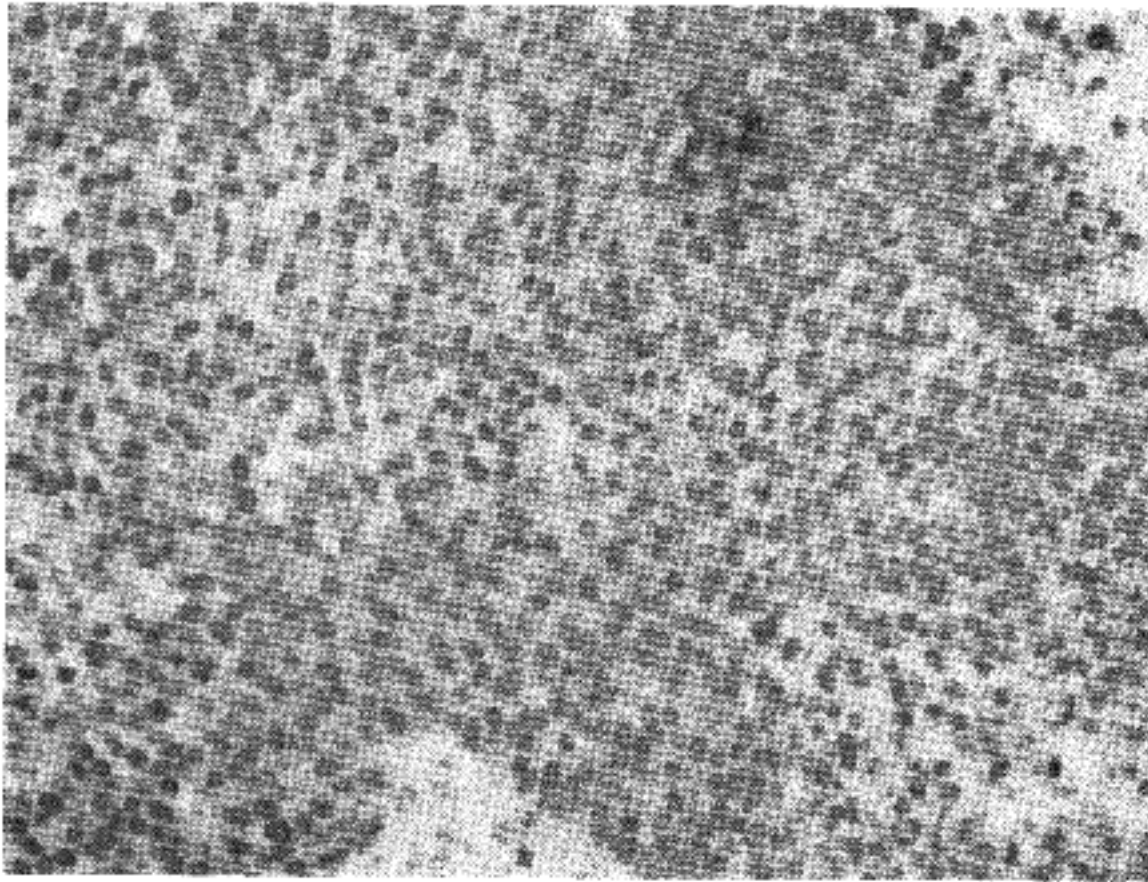


Fig. 2. PCNA labelling in large cell non-keratinizing type of squamous cell carcinoma. The tumor nuclei shows very high PCNA expression(PCNA labelling index = 67%)($\times 200$).

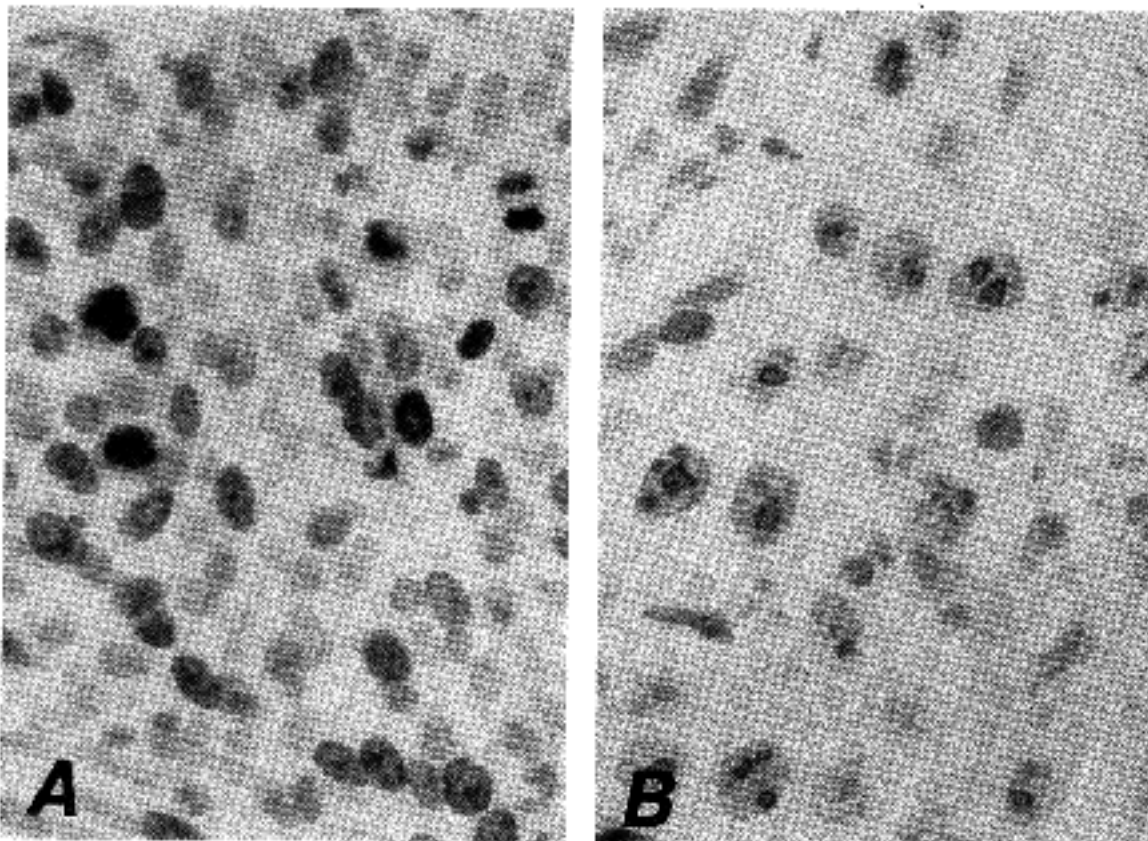


Fig. 3A & 3B. Ki-67 staining patterns in squamous cell carcinoma showing homogeneous darkening(Ki-67 index = 70%) or staining confined to nucleoli($\times 400$).

환자의 연령, 병기, 림프절 전이, MVC, PCNA 지수 및 Ki-67 표지지수를 환자의 추적조사에서 얻은 무병생존기간에 대하여 분석하였다. 분석시 연령은 연속형 자료형태를 취하였고 그의 각 인자들은 범주형 자료형태를 취하였다. 예를 들면 병기를 IIa 이하와 IIb 이상의 두군으로, 림프절 전이상태는 전이가 없는 군과 전이가 있는 두군으로 나누었으며, MVC, PCNA 지수 및 Ki-67 표지지수는 각각의 평균치를 기준으로 두군으로 나누어서 분석하였다(Table 1).

2) 인자들 간의 상관관계 분석 (Cross-table analysis): 각 인자들 간의 상관관계를 비교 분석하기 위하여 카이 제곱 검정법(chi-square test)을 사용하였으며 서로의 연관성을 구하여 이를 Table 2에 요약하였다.

3) Cox의 비례위험 모형(Proportional Hazards Model)에 의한 분석: 생존기간에 영향을 미치는 인자들을 알아보기 위하여 본 연구에서는 통계 패키지 SAS의 PROC PHREG를 이용하여 Cox의 비례위험 모형을 적합시켰다. Cox의 비례위험 모형(PH Model)은 다음과 같이 정의된다.

$$h(t;x) = h_0(t)e^{\beta x}$$

여기서 $h(t;x)$ 는 예후 인자가 x 일때의 위험률 함수이고 $h_0(t)$ 는 예후인자 $x=0$ 일때 기저위험률 함수이다. β 는 위험인자들의 회귀계수로써 $\beta=0$ 이 아니면 각 인자들은 유의한 예후 인자로 판단할 수 있다. Cox의 비례위험 모형을 적합시킬 수 있는데, 이때 유의한 인자들을 찾아내기 위하여 회귀분석 방법중 Stepwise 방법을 적용시켰다.

$$\text{Log} \frac{h(t;x)}{h_0(t;x)} = \hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 X_1 + \dots + \hat{\beta}_k X_k$$

여기서 $\text{Log} \frac{h(t;x)}{h_0(t)}$ 는 무병생존 기간의 로그함수 (Log time (month))이고, X_1, \dots, X_k 는 이 생존기간에 통계적으로 유의하게 영향을 미치는 인자들이다. $\hat{\beta}_1, \dots, \hat{\beta}_k$ 는 회귀계수(regression coefficient)들이다. 회귀계수 $\hat{\beta}_i$ 의 의미는 X_i 가 로그함수에 미치는 위험률을 나타내는 것인데, 예를 들면 림프절 전이에 대한 회귀계수가 $\hat{\beta}=49$ 라면 림프절 전이가 안된 환자들에 비하여 림프절 전이가 된 환자들의 상대위험률(relative risk)이 49배 만큼 높다는 것을 의미한다.

4) Kaplan-Meier estimates: 최종적인 모형이 Cox

의 비례위험 모형에서 구해졌으며 통계학적으로 유의한 영향을 미치는 각각의 인자들과 무병생존율을 각 수준에서 비교 연구할 수 있다. 본 연구는 SAS의 Kaplan-Meier의 무병생존율 함수를 서로 비교하는 것인데 이 결과는 PROC LIFE TEST라는 프로그램을 사용하여 얻었다.

결 과

1. 환자의 연령, 병기 및 무병 생존기간

연구대상 자궁경부암 환자의 연령은 26세에서 63세 사이로 20대에 3명, 30대에 10명, 40대에 11명, 50대에 18명, 60대에 5명이며, 55~59세 사이가 11명으로 가장 많았다. 환자의 평균 연령은 47.2 ± 10.8 세였으며 중앙치는 49세 였다.

환자의 병기는 FIGO stage에 따라 분류하면 Ib 6예, IIa 10예, IIb 21예, IIIa 1예, IIIb 8예, IVa 1예로 IIb가 44.7%로 가장 많았다.

무병생존기간(disease free survival)은 12개월에서 116개월간으로 광범위하였으며, 21~29 개월 사이에 17명으로 가장 많았고, 평균 무병생존 기간이 53 ± 26.2 개월 이었다.

2. 병리학적 분류 및 림프절 전이 상태

연구된 47예의 자궁 암종의 세포유형에 따른 WHO 분류를 보면 편평세포 암종 44예중 비각화형(nonkeratinizing type)이 39예로 가장 많았고, 각화형(keratinizing type)이 5예였고, 선편평세포 암종이 2예, 선암종이 1예 였다.

림프절 전이는 47예 중 21예(44.7%)에서 관찰되었고, 26예(55.3%)에서는 전이가 없었다. 림프절 전이 유무와 무병 생존율 간의 관계를 보면 림프절 전이가 있었던 21예중 10예(47.6%)에서 재발 또는 사망하였으나 림프절 전이가 없는 26예중 1예(3.8%)만이 사망하여 두 군간에 유의한 차이를 보였다($P=0.0003$)(Fig. 4).

3. 미세혈관 수(microvessel count, MVC)

연구된 47예의 자궁경부암종에서 측정된 MVC는 12에서 100까지로 광범위하게 분포되어 있고 평균 38.2 ± 19.2 였고 이를 평균 MVC를 기준으로 하여 두군으로 나누어 비교하여 보면 평균치보다 낮은군이 22명으로 이중 3명(18.2%)이 재발 또는 사망하였고, 평균치보다 높은군이 25명으로 이중 8명(32%)이 재발 또는 사망하였다. 그러나 양군을 비교하여 보면 무병생존율은 통계적으로 유의한 차이가 없었다

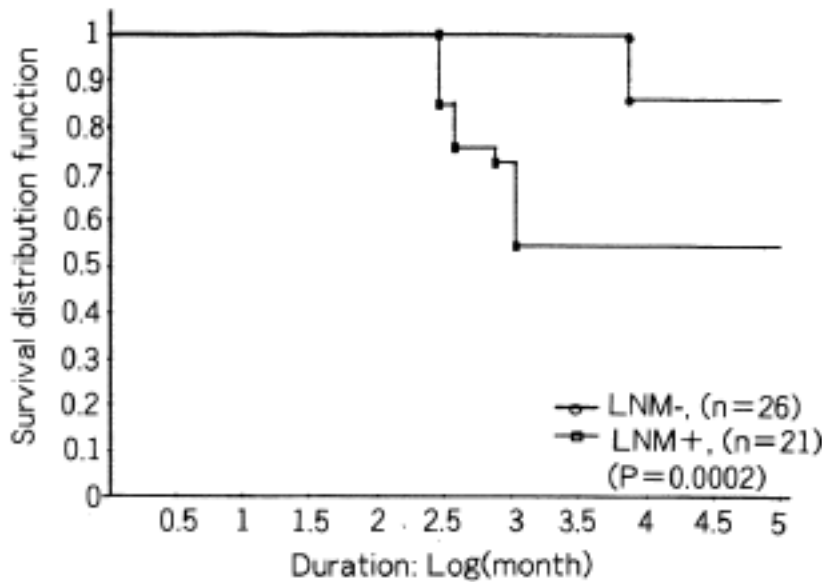


Fig. 4. Survival of 47 patients with uterine cervical carcinoma with regard to the presence of lymph node metastasis.

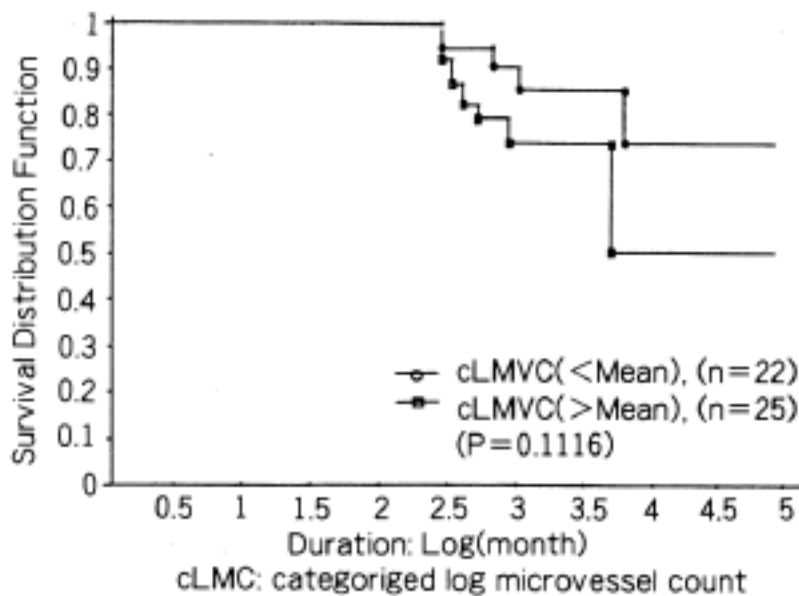


Fig. 5. Survival of 47 patient with regard to microvessel count.

(P=0.1116)(Fig. 5).

4. PCNA 지수

세포증식능을 나타내는 표지자로서 PCNA 지수는 본 연구에서는 골고루 분포되어 있었다. 낮게는 8%에서 높게는 69%까지로 나타났고, 이중 30%에서 39% 사이에 12예로 가장 많이 분포되어 있었다(Fig. 6). PCNA 지수의 평균은 $33.6 \pm 15.2\%$ 였다. 평균치를 중심으로 두군으로 나누어 비교하여 보면 무병생존율은 통계적으로 유의한 차이가 없었다(P=0.4399).

5. Ki-67 표지지수

Ki-67 양성으로 염색된 세포의 수를 백분율로 표

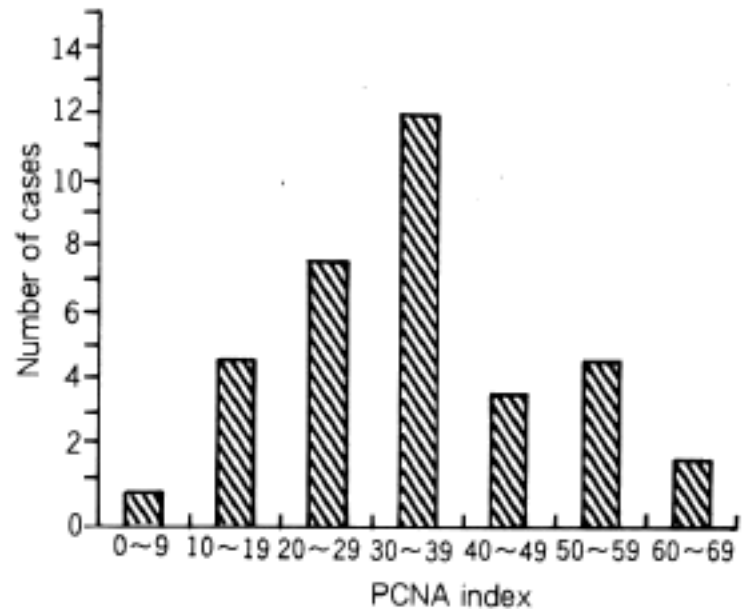


Fig. 6. Distribution of cases according to PCNA index.

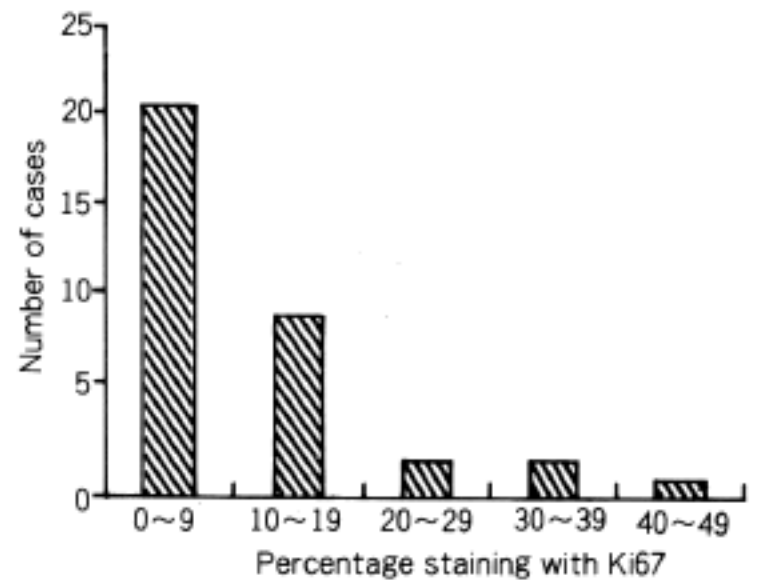


Fig. 7. Distribution of cases according to Ki-67 index.

시한 Ki-67 표지지수는 0에서 43%까지 다양하며 평균 $10.3 \pm 10.5\%$ 였다(Fig. 7). Ki-67의 평균수치 10.3보다 높은군에서 두명만이 재발이나 사망한데 비해, Ki-67이 평균보다 낮은 군에서 6명이 재발이나 사망하였다. 평균치를 중심으로 두군으로 나누어 비교해보면 무병생존율과는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다(P=0.5020).

6. 예후 인자들 간의 상관관계

각 예후 인자들 간의 상호 연관성을 알아보기 위해 먼저 각각 두 인자들간의 상호관련성을 알아볼 수 있는 카이제곱 검정을 시행하였다. 여기서 연속형 자료 연령은 평균치를 중심으로 두군으로 나누

Table 1. Categorizing data for comparing with each risk factors

Categorizing data (Mean)	No. of cases	
	≤ mean	> mean
Age (47)	23	24
MVC (38)	22	25
PCNA (33.62)	17	20
Ki-67 (10.32)	28	9
Stage(≤ IIa, ≥ IIb)	16	31
LNM(-, +)	26	21

MVC: microvessel count
 LNM: lymph node metastasis
 PCNA: proliferating cell nuclear antigen

있고, MVC, PCNA 지수 Ki-67 표지 지수도 평균치를 중심으로 평균치 이하와 평균치 이상의 예를 두군으로 나누었다. 또한 병기는 IIa 이하군과 IIb 이상의 두군으로 나누었고 림프절의 상태는 전이가 없는 군과 전이가 있는 군으로 나누어서 비교하였다 (Table 1). 여러 가능한 조합으로 두 인자들의 상관관계를 서로 비교하였으나 유의한 연관성은 보이지 않았다 (Table 2). 일반적으로 연속형 자료를 범주화시키는 기준이 매우 주관적이므로 두 인자간의 상호 관련성을 검정하는데 있어서 여러 다른 방법으로 자료를 범주화시켜 보았다. 예를 들면 MVC의 값을 평균치를 중심으로 나누지 않고 0~25, 26~50, 51~75, >75의 4군으로 나누어 (Table 3) MVC와 병기간의 상호 관련성을 검정해 보았을때도 병기를 두군으로 나누어 비교한 경우와 같이 통계학적으로 유의하지 않았다 ($P > 0.05$). 병기가 높을 수록 MVC치가 높은 편이나 역시 통계학적 유의성은 없었다 ($P > 0.05$).

7. 각 예후인자들과 무병 생존율(disease free survival probability) 간의 상관관계

연령, 병기, 림프절 전이여부, MVC, PCNA 지수, Ki-67 표지 지수 등을 무병 생존율과 Cox 다중 회귀 모형을 이용하여 통계학적으로 분석한 결과 림프절 전이 여부와 MVC가 통계학적으로 유의한 상관관계를 나타내었고, 연령, 병기, PCNA 지수와 Ki-67 표지 지수는 통계학적으로 유의성은 없었다.

Cox의 비례 위험 모형을 이용하여 Cox의 PHREG 과정으로 분석한 결과는 Table 4에 요약되어 있다.

Table 2. Association between categorized risk factors

Risk factors	Chi-square	P-value
Stage by LNM	0.278	0.598
Stage by Age	1.786	0.181
Stage by LogMVC	0.091	0.763
Stage by Log Ki-67	1.786	0.181
LogMVC by LNM	0.010	0.920
LogMVC by Age	2.616	0.106
Log MVC by Log Ki-67	0.521	0.471
LNM by Age	1.023	0.312
LNM by Log Ki-67	0.180	0.671
Age by Log Ki-67	0.189	0.664

Table 3. Distribution of microvessel count(MVC) with low and high FIGO stage

MVC	Stage		Total no. of cases
	≤ IIa	≥ IIb	
0~ 25	5	7	12
26~ 50	8	20	28
51~ 75	1	3	4
76~ 100	2	1	3
Total No.	16	31	47

MVC와 Ki-67 표지 지수의 수치는 분포가 한쪽으로 치우쳐 있어서 Log 변환을 통하여 Log MVC와 Log Ki-67로 계산하였고 각각을 일렬로 나열하여 수치의 증가에 따른 주된 효과(main effect)에 대한 상대 위험률(relative risk)을 보면 림프절 전이 유무가 상대 위험률이 49.120로 가장 높았다. Log MVC는 위험률이 8.594이며, 연령이 증가할 수록 상대 위험률이 1.125로 높아진다. Log Ki-67의 위험률은 0.556으로 음성적인 위험률을 보였으나 통계적인 유의성은 없었다 ($P = 0.0985$) (Table 4).

마지막으로 각 위험인자들의 주효과(main effect) 뿐만 아니라 각 인자들 간의 2차 교호작용(interaction effect)을 고려한 모형을 적합시켜 본 결과, 역시 연령, 림프절 전이 여부와 Log MVC는 모두 $\alpha = 0.05$ 로 할때 통계학적으로 유의하였다. Table 5에 나타난 결과를 보면 연령과 Log Ki-67 간의 교호작용이 추가된 결과 Log Ki-67의 상대 위험률은 40.378로 상당히 높은 양성적인 위험률을 보이고 있다. 이것은 주효과만 고려한 모형에서 보여준 음성적인 위험률 (0.556)과는 상당히 대조적인 결과를 나타내고 있다.

Table 4. Analysis of maximum likelihood estimates by PHREG; model with MVC, Age, LNM and Ki-67

Variable	Parameter estimate	Standard error	Wald Chi-Square	Pr > Chi-Square	Risk ratio
LogMVC	2.151	0.846	6.461	0.011*	8.594
Age	0.117	0.054	4.617	0.317	1.125
cLNM*	3.894	1.346	8.368	0.038	49.120
LogKi-67	-0.587	0.355	2.729	0.098*	0.556

*cLNM: categorized lymph node metastasis

*: P<0.05

Table 5. Analysis of maximum likelihood estimates by PHREG; model with MVC, Age, LNM, Ki-67 and interaction of Age and Ki-67

Variable	Parameter estimate	Standard error	Wald Chi-Square	Pr > Chi-Square	Risk ratio
Log MVC	2.409	0.997	5.839	0.015*	11.127
Age	0.281	0.132	4.512	0.033*	1.325
cLNM	4.000	1.517	6.948	0.008**	54.608
Log Ki-67	3.698	2.677	1.908	0.167	40.378
Age Ki-67*	-0.091	0.056	2.634	0.104	0.913

*: P < 0.05, **: P < 0.01

*Age Ki-67: 연령과 Log Ki-67간의 교호작용을 나타내는 변수임.

Table 6. Analysis of maximum likelihood estimates by PHREG; model with MVC, Age and LNM

Variable	Parameter estimate	Standard error	Wald Chi-Square	Pr > Chi-Square	Risk ratio
LogMVC	1.743	0.750	5.389	0.020	5.716
Age	0.059	0.041	2.042	0.153	1.061
cLNM	3.776	1.197	9.949	0.001	43.648

Table 7. Analysis of maximum likelihood estimates by PHREG; final model with MVC and lymph node metastasis

Variable	Parameter estimate	Standard error	Wald Chi-Square	Pr > Chi-Square	Risk ratio
LogMVC	1.186	0.643	3.400	0.065	3.275
cLNM	3.159	1.073	8.665	0.003	23.561

그러나 이때에도 Log Ki-67은 p-value가 0.167로 역시 통계적 유의성이 없었고 연령과 Log Ki-67간의 교호작용시에도 통계적 유의성이 없었다(P=0.104) (Table 5). 따라서 미세혈관수(MVC), 연령(Age), 림프절 전이 여부(LNM)의 주효과만으로 적합시켜 Table 6의 결과를 얻었다. Table 6에서 연령의 주효과가

통계학적으로 유의하지 않기 때문에 (P=0.153), 최종적으로 MVC와 림프절 전이 여부의 주효과만을 고려하는 Table 7과 같은 모형을 얻을 수 있다. 이 모형을 근거로 각 인자별로 두군으로 나누어진 각 인자수준에서 무병생존율을 구하여 Kaplan-Meier graph로 표시하였다(Fig. 4 & 5).

고 찰

자궁경부 암종은 한국 여성의 암 중에 가장 높은 빈도를 차지하며 자궁 경부암의 발생에 관여하는 많은 위험인자들에 대해서는 많이 알려져 있다. 특히 자궁경부암의 전구 병소에 대한 연구로 상피내 암종(CIN)의 개념이 정립되어 전암단계 내지는 초기 암 단계의 진단과 치료의 발전으로 선진국에서는 암의 빈도가 현저히 감소 되었다. 자궁의 침윤성 암은 오랜기간 동안의 침윤전 상태를 보이며, 또한 세포학적으로 집단검진(screening programs)에서 진단이 가능하여 침습전 단계에서 치료되기 때문에 예방이 가능한 암으로 생각되고 있다. 그러나 미국에서도 1994년에 15,000명의 새로운 예와 4,600명의 사망이 예상되므로 조기진단으로 생존율을 높여야 한다고 하였다²⁹. 자궁경부암의 평균연령은 52.2세이고 35~39세와 60~64세에 두번의 상승되는 분포를 보인다²⁹. 본 연구에서는 그 대상수가 많지 않지만 평균 47.2(26~63)세였고 55~59세에 11명, 45~49세 8명 순이었다. 자궁경부의 침윤성 암종에서 세포의 유형에 따라 예후가 다른데 각화성 또는 비각화성 대세포형의 편평세포암종이 소세포 유형보다 예후가 좋다. 소세포 암종에서도 폐의 귀리세포암종과 유사한 소세포 역행성 암종이 미분화된 편평세포암종보다 더 예후가 나쁘다. 본 연구에서 세포유형을 보면 편평세포 암종 44예중 비각화형이 39예로 가장 많았으며 나머지 유형의 수가 적어서 세포 유형에 대한 통계학적 분석은 시행하지 않았다. 환자의 병기는 FIGO stage IIb가 21예(44.7%)로 가장 많았다. 병기를 IIa까지와 IIb이상의 두군으로 나누고 MVC 치와의 상관관계를 비교하면 병기가 높을 수록 MVC가 높은 편이나 통계학적 유의성은 없었다. 이외 병기와 비교한 림프절 전이여부, PCNA 지수, Ki-67 지수는 전혀 연관성이 없었다.

림프절 전이는 자궁경부 암종의 예후에 가장 믿을만한 예측 인자로 알려져 있다. 림프절 전이가 없는 환자는 5년 생존율이 85~90%^{30,31}인 반면 림프절 전이가 있는 환자는 전이된 림프절의 수, 위치와 전이의 크기에 따라 20~75%로 차이가 있다^{1,2,32}.

전자궁 적출술과 림프절 절제를 시행한 후 생존율은 림프절 상태^{32,33}, 병소의 크기³, 경부주변의 자궁방 조직 침윤¹, 침윤의 깊이³⁴ 및 림프관-모세혈관 내강의 침습³⁵ 등이 영향을 미친다. 본 연구에서 저자는 연구대상 47예의 자궁경부암종의 연령, 병기와 림프절 전이 여부를 검토하였고, 무병생존 기간과의

연관성을 비교하였다. 이중 림프절 전이는 47예중 21예(44.7%)에서 관찰되었고 림프절 전이가 없었던 예가 26예(55.3%)였다. 림프절 전이가 있었던 21예중 10예(47.6%)가 재발 또는 사망하였으나, 림프절 전이가 없었던 26예중에서는 1예(3.8%)만이 사망하여 두군간에 유의한 차이를 보였다($P=0.0003$). 그러므로 본 연구에서 림프절 전이는 중요한 예후 예측 인자임을 확인할 수 있었다.

암세포의 유발, 성장 및 과급은 종양세포의 증식뿐만 아니라 종양이 자라는 부위 조직의 반응에 따라 다르다. 암이 전이하기 위해서는 종양세포와 비종양성 혈관, 면역계와 결합조직과의 사이에서 여러 가지 중요한 상호작용이 일어나게 된다. 종양의 신생혈관 형성은 종양의 생물학적 동태에 중요하며 종양의 성장은 맥관형성에 의존한다는 여러 가지 실험적 증거가 있다¹³. 불과 몇 mm 정도의 작은 종양이 처음 생겨 성장을 계속하기 위해서는 새로운 모세혈관 형성을 유도하게 된다. 이렇게 되면 종양세포가 모세혈관을 통해 순환하기가 용이하게 되어 전이가 일어나게 된다³⁶. 이 과정에서 맥관 유도에 여러 인자가 작용하게 된다. 1971년 Folkman³⁷은 종양성장은 맥관형성과 관계가 있다는 개념을 처음으로 제안하였고 일단 종양이 생기면 종양세포들이 증식하기 위하여 종양으로 향하는 새로운 모세혈관의 증가가 선행하게 된다. 이런 가설은 그후 많은 연구를 통해 맥관형성 분자들의 염기서열 결정과 cloning을 하게 되었다¹². 맥관억제성 스테로이드(angiotatic steroids), 맥관형성 방해물질(angiogenesis inhibitors)과 맥관형성 질환(angiogenic disease)을 설명하려는 연구가 시도되었다^{38,39}. Folkman등¹¹은 맥관형성에 관여하는 tumor angiogenesis factor(TAF)라는 매개체를 처음으로 악성 종양에서 추출하였고, 이 인자에 대한 맥관형성 억제능(antiangiogenesis)을 악성 종양 성장을 조절하기 위한 새로운 접근 방법으로 제안하였다. 여러 가지 맥관형성에 관여하는 폴리펩타이드가 밝혀졌는데 중요한 성장 인자로는 산성과 염기성 섬유모세포성 성장인자(acidic and basic fibroblastic growth factor(a & bFGF), angiogenin, 종양괴사인자- α (tumor necrosis factor- α), 전환 성장인자(transforming growth factor) α 와 β 등¹²이며 그외에도 지방으로 이루어진 여러 인자가 관여하는 것으로 알려져 왔다. 이들은 혈관의 내피세포에 직접 작용하여 유사분열을 자극하거나 동원되는 숙주의 대식세포에 간접적으로 작용하여 혈관 내피세포성 성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF)를 유리시켜 작용하기도 한다¹². 사람의 종양에서 맥관형성 정