

## 비소세포 폐암종에서 bcl-2, p53, VEGF의 발현: 미세혈관밀도 및 예후와의 상관관계

유진영 · 정지한 · 최현주 · 강석진  
강창석

가톨릭대학교 의과대학 임상병리학교실

접 수 : 2004년 9월 13일  
게재승인 : 2004년 12월 14일

책임저자 : 강 석 진  
우 442-723 경기도 수원시 팔달구 지동 93  
성빈센트병원 병리과  
전화: 031-249-7591  
Fax: 031-244-6786  
E-mail: sjkang@vincent.cuk.ac.kr

### Expression of bcl-2, p53 and VEGF in Non-Small Cell Lung Carcinomas: Their Relation with the Microvascular Density and Prognosis

Jinyoung Yoo, Ji Han Jung, Hyun Joo Choi, Seok Jin Kang and Chang Suk Kang

Department of Pathology, The Catholic University of Korea, College of Medicine, Seoul, Korea

**Background :** The aim of this study was to investigate the expression of bcl-2, p53 and vascular endothelial growth factor (VEGF) in non-small cell lung cancer (NSCLC), and to examine the relationship between those protein expressions and neovascularization. We also analyzed the prognostic impact of these biological parameters on the patients' overall survival rate. **Methods :** The archival tumor tissues from 147 previously untreated patients with NSCLC were examined by immunohistochemistry for bcl-2, p53 and VEGF proteins. The vascularity was measured by the average microvascular density (MVD) of the CD34-positive vessels. Clinical information was obtained through the computerized retrospective database from the tumor registry. **Results :** Immunoreactivity for bcl-2 was detected in 17% (25/147), p53 in 72% (106/147) and VEGF in 75% (110/147) of the tumors. An inverse association was found between bcl-2 expression and VEGF expression ( $p=0.012$ ). There was a significant correlation between the bcl-2 expression and the MVD ( $p=0.009$ ), and also between the p53 expression and the MVD ( $p=0.045$ ). The mean survival time was associated with the patients' age ( $p=0.032$ ), the T status ( $p=0.038$ ), the tumor stage ( $p=0.009$ ), and expressions of bcl-2 ( $p=0.016$ ) and VEGF ( $p=0.039$ ). On multivariate analysis, only the tumor stage and VEGF expression maintained their prognostic influence. **Conclusions :** Our data suggest that bcl-2 and p53 alterations are involved in the angiogenesis of NSCLC, and are either dependent on or independent of VEGF. It is further noteworthy that the tumor stage and VEGF expression may be useful in predicting patients' survival.

**Key Words :** Lung neoplasms; bcl-2; p53; VEGF; CD34

종양이 발생, 성장, 진행하는 데는 세포의 증식과 세포자멸사 사이의 불균형이 크게 영향을 끼친다.<sup>1</sup> 세포의 증식이나 세포자멸사에 관여하는 여러 가지 유전자의 변화가 종양의 발생이나 진행과 관련이 있다는 사실이 연구를 통해서 밝혀지고 있다. 한편, 종양이 일정 한계를 넘어 증식하고 전이 능력을 갖게 되는 데는 종양 주변 조직의 반응이 필수적이다. 즉, 종양세포와 혈관계, 면역계, 결합조직 간의 상호작용이 매우 중요하다. 특히, 원발 종양의 신생혈관 형성은, 종양이 성장하는 데 필요한 영양분과 산소를 신생혈관을 통해서 쉽게 공급 받고 노폐물을 신속히 제거할 수 있게 할 뿐만 아니라, 다른 장기로 전이할 수 있는 혈행 경로에 쉽게 도달할 수 있게 하며, 전이한 종양이 성장하고 증식하는 데도 큰 역할을 한다.<sup>2</sup>

폐암종은 침습성과 전이성이 매우 높은 종양으로 우리나라에서뿐만 아니라 전세계적으로 사망률이 매우 높은 암종이다. 전체 폐암종의 75%를 차지하며 수술 후에도 다른 종양에 비해 예후가 좋지 않은 비소세포 폐암종의 경우, 예후 예측이나 화학요법 및 방사선치료 여부를 결정하는 데 도움이 될 일부 분자생물학적 인자들에 관한 연구 보고들이 있으나, 생물학적 양태를 결정하는 예후인자 및 기전은 아직 명확히 밝혀지지 않았다.

bcl-2 유전자는 미토콘드리아 막 내부의 단백을 코드화하는 발암 유전자인데, 세포자멸사를 억제하여 세포의 생존 기간을 늘림으로써 암을 유발하는 여러 가지 변화에 민감하게 한다.<sup>3,4</sup> bcl-2 과발현은 여포성 림프종에서 관찰되며,<sup>1,5</sup> 그 밖에 유방암종, 신경아세포종, 비인두암종, 전립선 샘암종 및 위 샘암종에서

도 확인되었다.<sup>6-10</sup> 한편, bcl-2 발현과 비소세포 폐암종 예후의 상관관계는 보고자에 따라 다른 결과를 보이므로,<sup>3,4</sup> 이에 대한 확인 작업이 필요하다고 생각한다.

염색체 17p13에 위치하는 p53은 손상된 DNA를 수복하고 세포의 성장을 조절하는 기능 이외에도 세포분화와 세포자멸사에도 관여하는 매우 중요한 종양억제 유전자이다.<sup>11</sup> 이 유전자가 소실되거나 변이가 일어나면 종양 억제 기능을 잃어, 결국 종양 형성에 영향을 끼칠 수 있다. 실제로 p53 유전자의 변이는 여러 종양에서 가장 흔히 발견되므로, 이들 종양의 발생 기전에 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다. p53 유전자에 변이가 일어나면 하나의 염기가 다른 것으로 대체되어 변이 단백을 생성한다. 그리고 이와 같이 변이된 단백질은 분자 형태의 변화를 초래하여 야생형 p53 단백질보다 안정성이 높아 더 긴 반감기를 가지게 되어 종양세포 내에서 과발현된다. 야생형 p53 단백질은 전사과정을 조절하는 작용을 매개하여 세포주기를 G1기에 머물게 하여 세포 증식을 억제한다. 그러나 변이 단백질은 이 기능을 소실하여 종양 형성에 기여하게 된다.<sup>12</sup>

최근 신생혈관 형성과 발암 유전자나 종양 억제 유전자의 연관성에 관한 연구가 산발적으로 진행되고 있는 가운데, 신생혈관 형성과 미세혈관밀도 및 예후와의 상관관계가 유방암, 흑색종, 위선암 등에서 보고되었으나<sup>13-15</sup> 폐암종에서도 다양한 결과가 보고되었다.<sup>16-18</sup> 이에 저자들은 비소세포 폐암종에서 신생혈관 형성에 관한 bcl-2, p53, VEGF의 역할과 상호 관련성을 알아보고, 예후인자로서 의의를 알아보고자 하였다.

## 재료와 방법

### 연구 재료

가톨릭대학교 의과대학 성빈센트병원에서 2000년 1월부터 2002년 12월까지 개흉 생검이나 수술을 시행하여 폐의 원발성 비소세포암으로 진단한 147예(편평세포암종 63예, 샘암종 60예, 대세포암종 24예)를 대상으로 하였다. 수술 전에 방사선요법이나 화학요법을 받은 예는 연구 대상에서 제외하였다. 모든 조직은 광학현미경으로 살펴본 후 병리 진단을 확인하였다.

### 연구 방법

#### 면역조직화학염색

신선한 조직을 10% 중성 포르말린에 고정된 후 통상적인 표본 제작 방법에 따라 파라핀 포매체를 제작해서 헤마톡실린-에 오신 염색을 하여 진단에 이용하였다. 각 증례에서 출혈이나 괴사가 없는 대표적인 파라핀 블록을 한 개씩 선택한 뒤, 4 μm 두께의 연속 절편을 각각 5장씩 잘라서 특수 처리된 슬라이드(poly-L-lysine 도포)에 부착했다. 그 중 1장은 헤마톡실린-에

오신 염색을 하고, 나머지 4장은 bcl-2, p53, VEGF, CD34 항원에 대한 면역조직화학염색을 시행하였다.

면역조직화학염색을 위하여 우선 80°C 오븐에서 1시간 건조시킨 다음, 크실렌으로 실온에서 2분간 4회 탈파라핀하였다. 100% 알코올로 10초간 3회 처리하고, 10% citrate buffer (Zymed, San Francisco, USA)에 담가 120°C의 고압멸균기에서 15분간 가열한 후, 실온에서 20분간 방치하였다. 45°C의 세척 완충액으로 3분씩 3회 세척하고, 조직 내의 내인성 과산화효소를 제거하기 위하여 3% 과산화수소수에 45°C에서 5분간 반응시켰다. 이어서 세척 완충액으로 3회 씻어낸 후, 비특이 단백질의 결합을 제거하기 위하여 1:100으로 희석한 비면역 염소혈청(Zymed, San Francisco, USA)에 45°C에서 60분간 반응시켰다.

일차 항체는 bcl-2 (Zymed, San Francisco, USA), p53 (Zymed, San Francisco, USA), VEGF (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA), CD34 (Neomarkers, Fremont, USA)에 대한 단클론 항체들로서, 각각 1:50으로 희석하여 4°C 냉장고에서 하룻밤 동안 반응시켰다. 이후 이차 항체(biotinylated anti-mouse immunoglobulin antibody, Zymed, San Francisco, USA)를 10분간 반응시킨 후 세척 완충액으로 3분씩 3회 수세하고, streptavidin peroxidase detection system (Zymed, San Francisco, USA)을 이용하여 biotin-avidin 특이 결합을 유도하였다. 다시 씻어낸 후 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride를 이용하여 10분간 발색한 다음 Meyer's hematoxylin (Zymed, San Francisco, USA)으로 대조염색을 하였다.

음성 대조군은 염색 때 일차 항체 대신 정상 면양 혈청을 첨가해 주고 나머지 모든 과정은 동일하게 하였다. 양성 대조군으로 bcl-2에 대해서는 편도를, p53에 대해서는 양성이 확인된 유방암 조직을, VEGF와 CD34의 경우는 종양 주변의 정상 혈관 내피세포를 사용하였다.

#### 염색 결과 판독

결과 판정은 두 명의 병리의사가 독립적으로 하였다. bcl-2와 p53은 전체 종양세포의 1% 이상에서 핵에 붉은 갈색으로 면역 반응이 나타나는 경우를 양성으로 판독하였다.<sup>19</sup> VEGF는 종양 세포의 세포질에 염색되는 것을 양성으로 하되, 염색 강도에 따라 1, 2, 3점으로 구분하고, 다시 전체 종양세포 중 염색된 세포의 비율에 따라 25% 이하는 1점, 25-50%는 2점, 50% 이상일 때 3점을 주어 이를 합산하였다. 그리고 2점 이하인 경우를 음성, 3점 이상인 경우를 양성으로 하였다. 미세혈관밀도 측정에는 CD34에 대한 면역조직화학염색을 시행한 후, 저배율로 관찰하였을 때 종양의 침윤 부위 가운데 가장 혈관밀도가 높은 세 부위를 선정한 다음 200배율로 혈관 수를 측정하여 평균값을 구하였다. 혈관 내강이 없이 CD34에 양성 반응을 보인 하나의 혈관내피세포도 미세혈관으로 간주하였으며, 근육층이 있는 커다란 혈관은 측정 대상에서 제외하였다. 결과 판정은 두 명의 병리의사가 따로 시행한 후 평균치를 채택하였고, 각각의 수치와 평균값이 10% 이

상 차이가 나는 경우에는 이중 광학현미경으로 재검하였다.

#### 통계학적 분석

통계학적 분석은 SPSS version 11.5를 이용하여 면역조직화학염색에 의한 bcl-2, p53, VEGF 단백질 발현 간의 상관관계, 그리고 이들과 MVD 사이의 상관관계를 Pearson's chi-square test로 분석하였다. 유의 수준은 0.05 이하로 하였다. bcl-2, p53, VEGF에 대한 면역조직화학염색 결과나 기존의 예후인자와 예

후의 연관성은 Cox proportional-hazard model을 이용하여 분석하였고, p값이 0.05 미만인 경우를 통계학적으로 의미가 있다고 판정하였다.

## 결 과

총 147예 중 남녀의 비는 106:41 (72% vs. 28%)이었고, 연

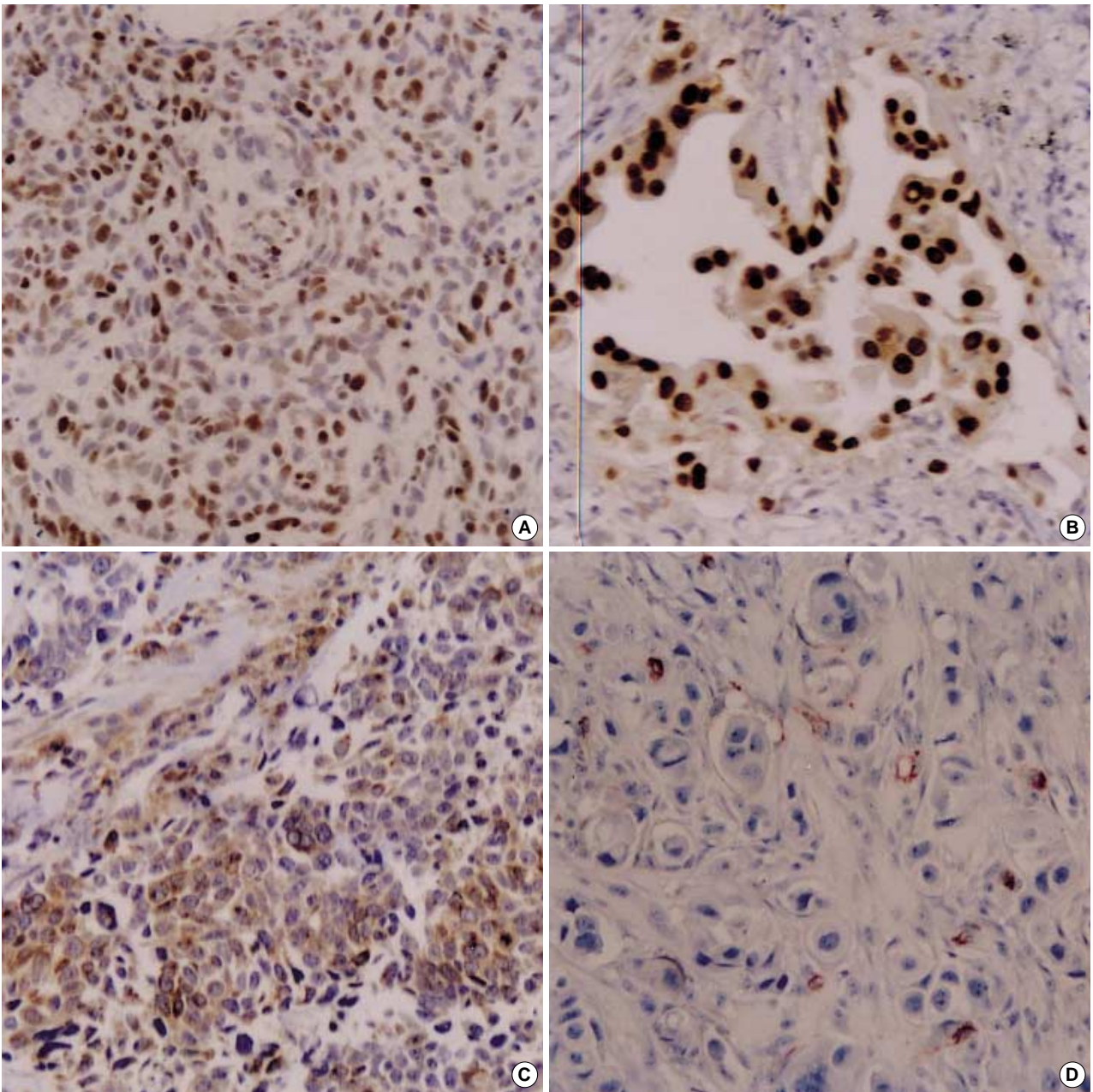


Fig. 1. Immunohistochemical staining for bcl-2, p53, VEGF, and CD34. (A) Tumor cells show intense nuclear immunoreaction for bcl-2. (B) Strong nuclear reactivity for p53 is present in the majority of tumor cells. (C) Tumor cells show positive immunostaining for VEGF. (D) Microvessels within the tumor are well visualized by immunostaining for CD34.

령 분포는 34세에서 87세로 평균 66세였다. 조직학적 유형은 편평세포암종이 63예(43%), 선암종이 60예(41%), 대세포암종이 24예(16%)였다. American Joint Committee on Cancer의 기준에 따라 T1, 2는 60예(41%), T3, 4는 87예(59%)였고, 림프절 전이가 없는 예가 22예(15%), 림프절 전이가 있는 예는 125예(85%)였으며, 병기 I, II는 20예(14%), 병기 III은 127예(86%)였다(Table 1).

면역조직화학염색 결과, bcl-2는 종양세포의 핵에 염색되었고(Fig. 1A), 25예(17%)에서 양성 반응을 보였다. p53은 106예(72%)에서 핵에 진하게 염색되었으며(Fig. 1B), VEGF는 110예(75%)에서 종양세포의 세포질에 염색되었다(Fig. 1C). bcl-2 발현과 VEGF 발현 사이에는 역상관계가 관찰되었고(p=0.012), bcl-2와 p53, p53과 VEGF 사이에는 상관계가 없었다(Table 2). 조직학적 유형에 따른 발현 빈도를 볼 때, 샘암종의 경우 1예에서만 양성을 보이는 bcl-2를 제외하면 각각의 유형에서 bcl-2, p53, VEGF의 발현 빈도에 큰 차이는 없었으나, 샘암종에서 p-53, VEGF의 발현 빈도가 가장 높았다(Table 3).

**Table 1.** Univariate analysis of the association between prognostic parameters and median survival time (MST) in patients with NSCLC (n=147)

Variables	No.	MST (weeks)	Log-rank test p-value
Age (years)			
<66	32	43	0.032
≥66	115	27	
Gender			
Male	106	31	0.311
Female	41	36	
Histology			
Squamous cell carcinoma	63	29	0.856
Adenocarcinoma	60	34	
Large cell carcinoma	24	32	
T status			
T1,2	60	43	0.038
T3,4	87	28	
N status			
Negative	22	29	0.956
Positive	125	27	
Stage			
I,II	20	58	0.009
III	127	20	
bcl-2			
Negative	122	28	0.016
Positive	25	66	
p53			
Negative	41	34	0.794
Positive	106	29	
VEGF			
Negative	37	48	0.039
Positive	110	28	
Microvascular density			
<49.8	51	45	0.357
≥49.8	96	32	

모두 147예의 폐암종에서 CD34 염색을 하여 종양 내 미세혈관밀도를 측정된 결과, 200배 시야당 평균 혈관수는 49.8개였고(Fig. 1D), 조직학적 유형에 따른 미세혈관밀도의 차이는 없었다(Table 3). 미세혈관밀도는 bcl-2 음성인 경우 47.4개, bcl-2 양성인 경우 72.7개로 bcl-2 발현과 미세혈관밀도 사이에 유의한 상관관계를 보였으며(p=0.009), p53 음성인 경우 38.5개, p53 과발현인 경우 56.1개로 p53 발현과 미세혈관밀도의 관계도 통계적으로 유의하였다(p=0.045). VEGF는 음성의 경우 49.6개, 양성인 경우 49.1개로 미세혈관밀도의 차이가 없었다(Table 4).

예후인자와 생존 기간의 상관관계를 보기 위한 단변수(univariate) 분석을 한 결과(Table 1), 66세 미만의 환자들이 생존 기간이 더 길었다(p=0.032). 이는 연령이 낮을수록 수술 후 회복이 빠르고 부작용이 적기 때문인 것으로 생각된다. T (p=0.038)와 병기(p=0.009)도 낮을수록 생존 기간이 길었으나, 성별(p=0.311), 조직학적 유형(p=0.856), 림프절 전이(p=0.956)는 통계학적으로 유의한 상관관계를 보이지 않았다. bcl-2 양성인 환

**Table 2.** Association between bcl-2, p53 and VEGF in NSCLC

		bcl-2		p53	
		Positive	Negative	Positive	Negative
VEGF	Positive	17	93	82	28
	Negative	8	29	24	13
	p-value	0.012		0.316	
bcl-2	Positive			18	7
	Negative			88	34
	p-value			0.892	

**Table 3.** Expression of bcl-2, p53 and VEGF, and MVD according to the histologic subtype

Subtype	No.	bcl-2-positive (%)	p53-positive (%)	VEGF-positive (%)	MVD (mean±S.D.)
SCC	63	18 (29)	45 (71)	46 (73)	48.4±38.4
AC	60	1 (2)	46 (77)	50 (83)	53.9±39.5
LCC	24	6 (25)	15 (63)	14 (58)	54.2±36.1

SCC, squamous cell carcinoma; AC, adenocarcinoma; LCC, large cell carcinoma.

**Table 4.** Microvascular density (MVD) of patients with NSCLC according to the expression of bcl-2, p53 and VEGF

	No. (%)	MVD (mean±S.D.)	p-value
bcl-2			
Negative	122 (83)	47.4±34.2	0.009
Positive	25 (17)	72.7±53.3	
p53			
Negative	41 (28)	38.5±30.2	0.045
Positive	106 (72)	56.1±41.7	
VEGF			
Negative	37 (25)	49.6±40.9	0.095
Positive	110 (75)	49.1±35.6	

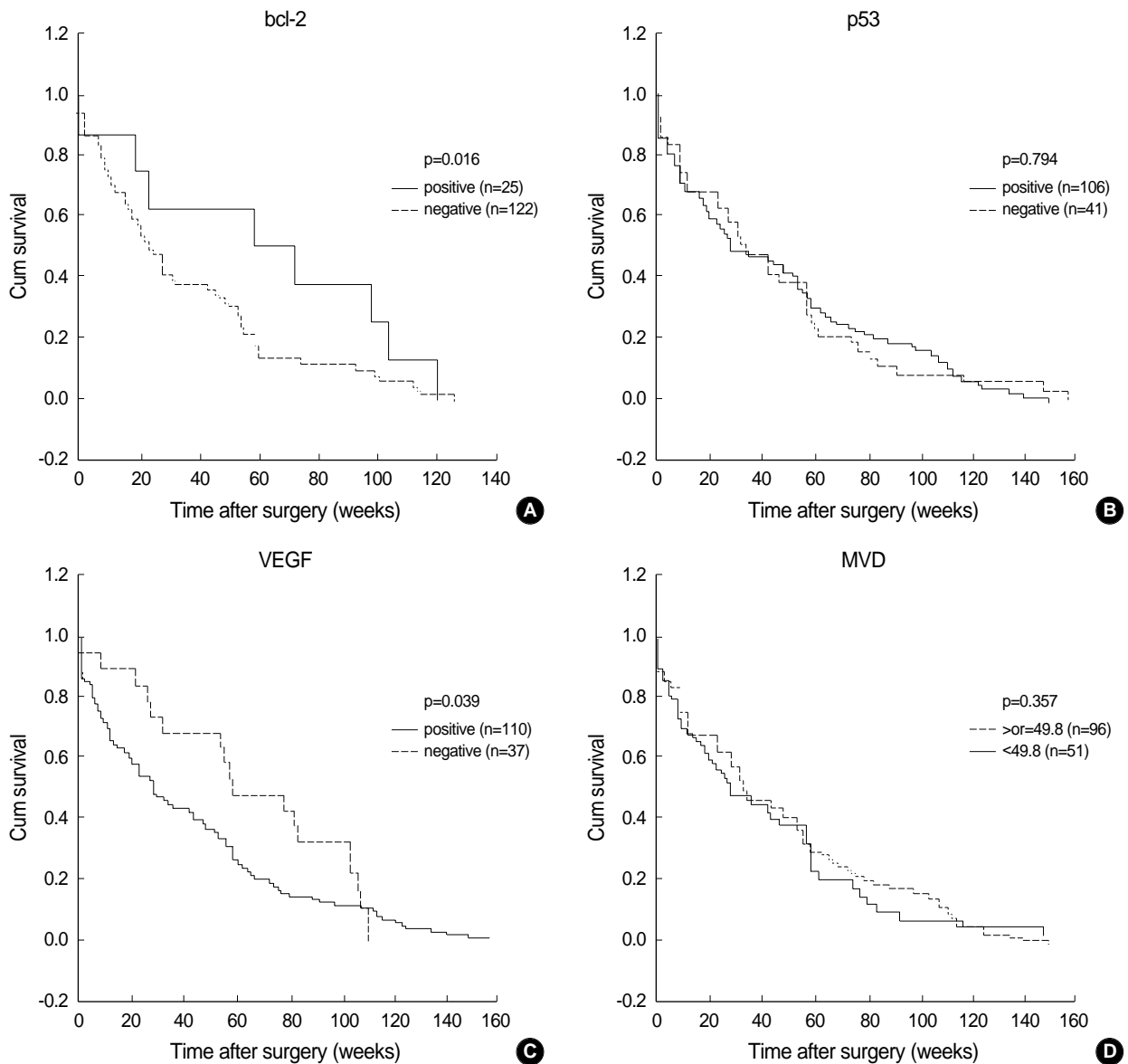


Fig. 2. Survival curves of NSCLC patients according to bcl-2 (A), p53 (B), VEGF (C), and MVD (D) (Kaplan-Meier method).

Table 5. Multivariate analysis of median survival time in patients with NSCLC

Variables	$\beta$	SE of $\beta$	95% Confidence Interval	Log-rank p-value
Age	-0.003	0.16	0.966-1.029	0.871
Gender	0.29	0.552	0.453-3.939	0.605
T status	0.265	0.279	1.009-2.942	0.342
N status	-1.236	1.23	0.026-3.239	0.315
Stage	0.544	0.273	1.009-2.942	0.046
bcl-2	-1.289	0.866	0.050-1.504	0.137
p53	-0.908	0.523	0.145-1.124	0.082
VEGF	-0.742	0.329	0.250-0.907	0.024
Microvascular density	0.001	0.007	0.987-1.015	0.877

자의 생존 기간이 bcl-2 음성인 환자의 생존기간보다 길었으며 (p=0.016), VEGF 음성인 환자의 생존 기간이 양성인 환자보다 길었다(p=0.039). p53(p=0.794)과 미세혈관밀도(p=0.357)는 생존 기간과 유의한 연관성이 없었다(Fig. 2). 한편 다변수 (multivariate) 분석을 하였을 때, 병기(p=0.046)와 VEGF (p=0.024)만이 독립적인 예후인자로서 통계학적 유의성을 보였다(Table 5).

## 고 찰

본 연구에서는 인체 NSCLC 147예를 대상으로 bcl-2, p53,



VEGF, MVD를 조사하였다. 면역조직화학염색 결과, (1) bcl-2 단백질 발현은 비교적 낮았으나 p53과 VEGF 단백질 발현 빈도는 높았고, (2) VEGF와 MVD 사이에 상관관계는 없었던 반면 bcl-2와 MVD, p53과 MVD 사이에는 유의한 상관관계가 관찰되었으며, (3) 환자의 연령, T, 병기, bcl-2와 VEGF는 환자의 생존 기간과 유의한 상관관계를 보였는데, 다변수 분석에서 병기와 VEGF가 독립적인 예후인자로 확인되었다.

NSCLC에서 bcl-2에 관한 자료는 매우 적은 편이고, 예후와의 상관관계도 아직 확실치 않다. Pezzella 등<sup>3</sup>은 122예의 NSCLC 중 25예(20%)에서 bcl-2 발현을 관찰한 다음, bcl-2 음성 환자들의 사망 위험률이 bcl-2 양성 환자들보다 훨씬 높았으며, Cox regression 분석으로 bcl-2가 생존 예측인자라고 주장하였다. 이는 저자들의 연구 결과와 일치하는 것으로, 본 연구에서 bcl-2 발현율은 17%였고 생존 기간과 유의 있는 상관관계를 보였다. 그러나 Gaffney 등<sup>4</sup>은 25%에서 bcl-2 발현이 나타났지만 bcl-2 발현 유무에 따른 환자 예후의 차이는 없었다고 하였다. bcl-2 발현이 특징인 여포성 림프종은 매우 서서히 진행된다. Korsmeyer<sup>20</sup>은 이러한 현상이 여포성 림프종에만 국한되지 않고 다른 종양에서도 일어날 수 있다고 하였다. 저자들과 Pezzella 등<sup>3</sup>의 연구 결과는 폐암종에서도 여포성 림프종에서와 마찬가지로 bcl-2 발현이 종양의 성장이나 진행을 지연시킬 가능성을 뒷받침하는 것이다. 그러나 좀더 신빙성 있는 결론에 도달하기 위해서는 더욱 많은 증례를 대상으로 연구할 필요가 있다고 생각해서, 현재 저자들의 실험실에서 세포자멸사와 연계한 bcl-2 연구가 진행 중에 있다.

저자들은 bcl-2와 p53이 MVD와 유의한 상관관계가 있음을 관찰하였는데, 이는 NSCLC의 신생혈관 형성에 bcl-2와 p53이 관여한다는 점을 강력히 시사하는 것이다. p53은 in vitro에서 신생혈관 형성의 자극인자들과 억제인자들 사이의 균형을 조절함으로써 신생혈관 형성에 관여하는 것으로 보인다. Kieser 등<sup>21</sup>은 p53의 변이형이 protein kinase C를 통해 VEGF의 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate를 유도하는 것으로 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 p53이 VEGF와 상관관계를 보이지 않은 점으로 미루어, VEGF와 무관한 또 다른 기전도 신생혈관 형성에 작용하는 것으로 생각된다. 한편, bcl-2 발현을 보이는 종양세포들은 종양괴사인자 등에 의한 저산소 상태에서 보호되기 때문에,<sup>18</sup> 결국 bcl-2 양성인 종양세포에서 저산소증에 의해 유도되는 VEGF 발현증가가 방해를 받는 것으로 추측할 수 있다. 이 점은 저자들이 관찰한 bcl-2와 VEGF 사이의 역상관관계로 확인할 수 있었다.

동물실험을 통해 신생혈관 형성이 종양의 성장이나 전이에 매우 중요한 역할을 한다고 밝혀졌다.<sup>22</sup> 인체 종양의 신생혈관 생성은 MVD 측정에 의해 추정할 수 있는데, 몇몇 종양에서 MVD가 독립적인 예후인자라고 알려졌으나 아직 논란의 대상이 되고 있다. 유방암종, 구강암종, 방광암종에서 MVD가 높으면 나쁜 예후를 보였다고 하는데, 다른 연구자들의 유방암종, 구강암종

연구에서는 상관이 없다고 하였다. 반대로 MVD가 높으면 오히려 좋은 예후를 보였다는 보고도 있다.<sup>23</sup> NSCLC에서도 마찬가지로 서로 상반되는 결과가 보고되었고,<sup>24,25</sup> 본 연구에서 MVD는 생존 기간과 상관이 없었다. 이렇게 연구 결과가 다양한 이유는 첫째, 염색상의 기술적인 문제 때문일 수 있고 둘째, 연구에 포함된 종양의 종류에 따라 다른 결과를 얻을 수 있으며 셋째, 염색 결과를 판정하는 기준에 따라 달라질 수 있기 때문이다. 특히 결과를 판정할 때 종양의 비균질성이 크게 기여할 것으로 생각되는데, 이를 확인하고자 Schor 등<sup>17</sup>은 NSCLC 4예의 여러 부위에서 총 47개의 블록을 만들어서 MVD를 측정하고 이를 1예당 1개 블록으로 50개의 임의 블록에서 얻은 결과와 비교하였다. 우선 혈관밀도가 높은 부위에서 MVD를 측정하였을 때 종양 부위와 정상 부위의 MVD에 차이가 없었으며, 혈관밀도가 평균인 부위에서 MVD를 측정하였을 때 종양 부위보다 정상 부위에서 오히려 더 높은 MVD를 관찰하였다. 따라서 폐암종에서 MVD가 신생혈관 형성을 의미한다고 볼 수 없다고 주장하였다. 또한, 종양의 변연부에서 반드시 가장 높은 MVD가 관찰되는 것은 아닐 뿐더러 1개 블록은 대표성이 없음을 확인하였다. 그러나 그들의 연구에서 종양 내 부위에 따른 MVD의 차이(intratumoral variation)도 있으며, 종양들 간의 MVD에도 유의 있는 차이(intertumoral variation)가 있는 것으로 미루어 보아, 종양 내 비균질성보다 종양 간의 비균질성이 더 크다고 생각된다. 따라서 염색 기술 및 결과를 판정하는 기준을 표준화할 필요가 있으며, 향후 좀더 많은 증례를 대상으로 MVD뿐 아니라 신생혈관 형성에 관여하는 다른 인자들까지도 광범위하게 연구할 필요가 있다.

이상의 연구 결과, NSCLC에서 p53과 VEGF 단백질 발현 빈도가 높아 이들이 NSCLC의 발생이나 진행과 관련이 있다는 사실을 알 수 있었다. bcl-2와 p53은 신생혈관 형성에 중요한 역할을 하며, 특히 bcl-2은 예후 예측인자로서 활용할 수 있다는 가능성을 시사하였다. 또한 NSCLC에서 병기와 VEGF 발현의 예후 예측인자로서 이용 가치를 확인하였다.

## 참고문헌

1. Kerr JF, Winterford CM, Harmon BV. Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer* 1994; 73: 2013-6.
2. Song JS, Cho MY, Park KH, Jung SH, Lee KG. Expression of E-cadherin, matrix metalloproteinase and vascular endothelial growth factor in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the lung. *Korean J Pathol* 2000; 34: 972-81.
3. Pezzella F, Turley H, Kuzu I, et al. bcl-2 protein in non-small-cell lung carcinoma. *N Engl J Med* 1993; 329: 690-4.
4. Gaffney EF, O'Neill AJ, Staunton MJ. bcl-2 and prognosis in non-small-cell lung carcinoma. *N Engl J Med* 1994; 330: 1757-8.
5. Aisenberg AC, Wilkes BM, Jacobson JO. The bcl-2 gene is rearranged

- in any diffuse B-cell lymphomas. *Blood* 1988; 71: 969-72.
6. Bhargava V, Kell DL, van de Rijn M, Warnke RA. Bcl-2 immunoreactivity in breast carcinoma correlates with hormone receptor positivity. *Am J Pathol* 1994; 145: 535-40.
  7. Castle VP, Heidelberger KP, Bromberg J, Ou X, Dole M, Nunez G. Expression of the apoptosis-suppressing protein bcl-2, in neuroblastoma is associated with unfavorable histology and N-myc amplification. *Am J Pathol* 1993; 143: 1543-50.
  8. Lu QL, Elia G, Lucas S, Thomas JA. bcl-2 proto-oncogene expression in Epstein-Barr-virus-associated nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer* 1993; 53: 29-35.
  9. McDonnell TJ, Troncoso P, Brisbay SM, *et al.* Expression of the protooncogene bcl-2 in the prostate and its association with emergence of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 6940-4.
  10. Ayhan A, Yasui W, Yokozaki H, Seto H, Veda R, Tahara E. Loss of heterozygosity at the bcl-2 gene locus and expression of bcl-2 in human gastric and colorectal carcinomas. *Jpn J Cancer Res* 1994; 85: 584-91.
  11. Shaw P, Bovey R, Tardy S, Sahli R, Sordat B, Costa J. Induction of apoptosis by wild-type p53 in a human colon tumor-derived cell line. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 4495-9.
  12. Yoo J, Lee HK, Kang CS, Park WS, Lee JY, Shim SI. P53 gene mutations and p53 protein expression in human soft tissue sarcomas. *Arch Pathol Lab Med* 1997; 121: 395-9.
  13. Weidner N. Tumoural vascularity as a prognostic factor in cancer patients: the evidence continues to grow. *J Pathol* 1998; 184: 119-22.
  14. Fallowfield ME, Cook MG. The vascularity of primary cutaneous melanoma. *J Pathol* 1991; 164: 241-4.
  15. Maeda K, Chung YS, Takatsuka S, *et al.* Tumor angiogenesis and tumor cell proliferation as prognostic indicators in gastric carcinoma. *Br J Cancer* 1995; 72: 319-23.
  16. Decaussin M, Sartelet H, Robert C, *et al.* Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its two receptors (VEGF-R1-Flt1 and VEGF-R2-Flk1/KDR) in non-small cell lung carcinomas (NSCLCs): correlation with angiogenesis and survival. *J Pathol* 1999; 188: 369-77.
  17. Schor AM, Pazouki S, Morris J, Smither RL, Chandrachud LM, Pendleton N. Heterogeneity in microvascular density in lung tumors: comparison with normal bronchus. *Br J Cancer* 1998; 77: 946-51.
  18. Baillie R, Carlile J, Pendleton N, Schor AM. Prognostic value of vascularity and vascular endothelial growth factor expression in non-small cell lung cancer. *J Clin Pathol* 2001; 54: 116-20.
  19. O' Neill AJ, Staunton MJ, Gaffney EF. Apoptosis occurs independently of bcl-2 and p53 over-expression in non-small cell lung carcinoma. *Histopathology* 1996; 29: 45-50.
  20. Korsmeyer SJ. Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death. *Blood* 1992; 80: 879-86.
  21. Kieser A, Weich HA, Brandner G, Marme D, Kolch W. Mutant p53 potentiates protein kinase C induction of vascular endothelial growth factor expression. *Oncogene* 1994; 9: 963-9.
  22. Folkman J. What is the evidence that tumours are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 4-6.
  23. Gasparini G, Harris AL. Clinical importance of the determination of tumour angiogenesis in breast carcinoma: much more than a new prognostic tool. *J Clin Oncol* 1995; 13: 765-82.
  24. 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.
  25. Fontanini G, Vignati S, Boldrini L, *et al.* Vascular endothelial growth factor is associated with neovascularization and influences progression of non-small cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 861-5.