

비소세포 폐암에서 아포프토시스와 종양내 미세 혈관 밀도의 관계

장 인 석* · 김 종 우* · 김 진 국** · 한 정 호***

=Abstract=

Correlation Between Apoptosis and Intratumoral Microvessel Density in Non-Small Cell Lung Cancer.

In Seok Jang, M.D. *, Jong Woo Kim, M.D. *, Jhin Kook Kim, M.D. **, Jung Ho Han, M.D. ***

Background: Increasing evidences from experimental studies indicate that apoptosis may be inversely related to angiogenesis in tumor progression. **Material and Method:** To explore how apoptosis correlates with tumor angiogenesis, we measured the apoptotic index(AI) using the terminal deoxynucleotidyl transferase method(Apop Tag In Situ Apoptosis Detection Kit, ONCOR) and the intratumoral microvessel density using the anti-CD31 monoclonal antibody in non-small cell lung cancer. **Result:** Statistical analysis revealed an inverse correlation between AIs and intratumoral microvessel densities in squamous cell lung carcinoma(Spearman rank correlation coefficient $r=-0.229$, $p=0.047$). **Conclusion:** The results of this study demonstrated that the amount of apoptosis in squamous cell lung carcinoma may be influenced by the extent of neovascularization. This suggests that tumor angiogenesis may contribute to a reduction of apoptosis in tumor cells.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1999;32:151-7)

Key word : 1. Lung Neoplasm
2. Histology
3. Angiogenesis

서 론

세포사에는 괴사와 아포프토시스가 있다. 괴사는 급성 세포 손상에 의한 병리적인 세포사로서 세포는 세포질 내의 삼투압을 유지하지 못하여 세포막이 파괴되고, 세포질 내의 구조물이 붕괴되는 작용이다. 반면, 아포프토시스는 세포

스스로가 조절하는 세포사로서 세포내의 자신의 단백 분해 효소에 의하여 이루어지고, 세포내 소기관의 파괴, 세포의 축소, 막의 변형을 일으킨다. 또한, 핵 내의 DNA가 세포 자체의 효소에 의해 파괴되고, 미토콘드리아가 기능을 잃게 된다. 정상적으로 아포프토시스가 일어나지 않게 되면 여러

*경상대학교 의과대학 흉부외과학 교실, 경상대학교 병원 흉부외과

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine Hospital, Gyeong Sang National University. Gyeong Sang National University Hospital.

**성균관 대학교 의과대학 흉부외과학 교실, 삼성서울병원 흉부외과

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, Sung Kyun Kwan University. Samsung Medical Center

***성균관 대학교 의과대학 진단병리학과 교실, 삼성서울병원 진단병리과

Department of Diagnostic pathology, College of Medicine, Sung Kyun Kwan University. Samsung Medical Center

논문접수일 : 98년 5월 11일 심사통과일 : 98년 10월 17일

책임저자 : 장인석, (660-702) 경남 진주시 칠암동 90, 경상대학교 병원 흉부외과. (Tel) 0591-750-8124, (Fax) 0591-753-8138

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

가지의 암종, 면역학적 질병, 바이러스성 질병 등의 발병 이전에 연관이 된다고 한다¹⁾. 그러나 비정상적인 아포프토시스의 발생 빈도와 조절, 종양의 발생과 종양의 성장에 있어서의 아포프토시스의 역할에 관해서는 아직 많은 논란이 있다²⁾. 최근 보고에 의하면 대부분의 암종의 발생과 성장, 종양의 전이 등의 과정에서 아포프토시스가 중요하다는 의견이 대두되고 있다. 그 간접적인 증거로 종양의 성장이 억제된 상태에서는 종양 내의 아포프토시스의 정도가 증가되어 있다고 한다³⁻⁵⁾.

아포프토시스가 종양의 진행 과정에서 성장과 소멸에 영향을 미친다면, 아포프토시스를 조절함으로써 종양의 성장을 억제시키는 방법을 찾아낼 수 있을 것이라고 생각된다⁶⁾.

아포프토시스의 발생에 영향을 미치는 외적인 자극에는 림프 독소, 종양 괴사 인자(tumor necrosis factor), 베타 종양 성장 인자(tumor growth factor β), 당류 코르티코이드(glucocorticoid), 아데노신(adenosine), 발리노마이신(valinomycin), 수용체를 매개로 활성화된 T 림프구(T cells), 흉선 림프구(thymocytes), 방사선조사, 싸이토카인(cytokine)부족 등이 있다. 아포프토시스와 관련된 유전자로서는 p53, MyD(myeloid differentiation primary response genes), gadd(growth arrest and DNA damage genes), gas(growth arrest specific genes), spr(small proline rich genes), *bcl-2*, *c-myc* 등이 있다. *Bcl-2*의 생성물은 아포프토시스를 억제하는 것으로 보고되었고, 최근에는 *bcl-2*와 20%의 유사성을 가지는 Bax 라는 유전자의 생성물이 세포사를 촉진시킨다고 보고되었으며, 암 유발 유전자인 *c-myc* 또한 세포사를 촉진시키는 것으로 알려졌다⁴⁾.

저자는 종양이 급속히 성장을 하면 혈관의 생성이 종양의 성장을 따라가지 못하여 종양의 성장과 혈관 성장간에 불균형이 생기고 저산소 상태가 되어 종양 내 아포프토시스가 일어나게 되는데 관심을 가지게 되었다⁷⁾.

주위 조직들로부터 종양으로의 산소나 양분 공급은 제한되어 있기 때문에 종양이 커지면 필요한 산소나 양분의 공급을 위해서 추가적인 혈관의 생성을 필요로 하게 된다. 실험적인 연구에 의하면 종양이 수 미리 미터 이상으로(약100만개의 세포) 커지려면 새로운 모세혈관이 생성되어야 한다고 한다⁸⁾. 종양 조직에 혈관이 생성되면 정체되어 있던 종양 세포가 빠른 성장을 하게 된다^{6,9)}.

저산소증 상태에서 종양의 성장이 억제되는 기전은 종양 성장 인자의 유무에 영향을 받는다. 성장 인자가 존재하는 종양 세포는 아포프토시스로 소멸되지 않는데, 이런 종양 세포에는 유전자 p53가 돌연변이로 나타나거나, *Bcl-2* 유전자 생성물이 과발현되어 존재한다¹⁾.

암세포주(cell line)를 이용한 실험관내(in vitro) 실험에서 혈관의 성장을 억제하는 인자들이 종양의 성장을 억제하면

암세포의 아포프토시스를 증가시킨다고 하였다^{10, 11)}. 그러므로 아포프토시스 및 종양내 혈관의 생성은 종양의 성장과 서로 연관되어 있을 것이라고 예상된다. 실제로 인체의 종양에서 아포프토시스와 종양내 미세 혈관의 밀도와와의 관계는 위암 조직에서 서로 역 상관 관계가 있다고 보고된 바 있었다¹²⁾.

폐암은 점차 증가하고 있는 추세로서 우리 나라 보건 복지부의 통계에 의하면, 1982년에서 1987년 까지의 남자의 전체 발생 암 중에서 폐암이 3위의 암으로¹³⁾ 그 중요성이 증가되고 있다. 그리고 아직 폐암 조직에서는 아포프토시스의 빈도가 밝혀진 바가 없었다. 이에 저자는 수술적인 절제로 조직을 구할 수 있었던 비소세포성 폐암을 대상으로 아포프토시스성 세포사와 종양내 미세 혈관의 밀도를 조사해서 그 관계를 보고자 하였다.

대상 및 방법

폐암 조직의 준비 : 1996년 10월부터 1997년 6월까지 삼성서울병원에서 비소세포성 폐암으로 근치적 폐엽 및 전폐엽 절제술을 시행받은 104명의 환자를 대상으로 하였다. 술 전 방사선 치료나 항암 치료를 받은 환자는 그 자체가 아포프토시스에 영향을 줄 수 있기 때문에 실험에서 제외하였다. 평균 연령은 61 ± 8.74 세였고, 남녀 비는 6.4 : 1이었다. 조직학적 분류로 편평세포암종은 54례, 선암종은 45례, 기관지-폐포암종은 5례가 있었다. 저자는 각 증례의 Hematoxylin-Eosin 염색 슬라이드를 판독하여 종양 세포가 풍부하게 포함된 파라핀 블록을 선택하였다. 선택된 파라핀 블록으로부터 조직을 4 마이크로미터 두께로 박절하고, 박절된 조직을 슬라이드 위에 올려놓고 섭씨 45 도 건조기에서 6시간 동안 건조시키면서 염색을 준비하였다.

아포프토시스 세포와 소체의 염색 방법 : 아포프토시스 세포와 소체는 terminal deoxynucleotidyl transferase(TdT)를 사용하여 염색하였다. 파라핀을 제거한 후 흡수시키고 다시 PBS 용액(PBS, 50mM sodium phosphate, pH 7.4, 200 mM NaCl)으로 세척하였다. 조직을 Proteinase K(20 μ g/ml로 PBS 용액과 혼합)를 이용하여 20분 동안 실온에서 분해시키고 세척하였다. 그 다음 슬라이드를 3% H₂O₂에 5분간 담구었다가 다시 PBS 용액으로 세척하였다. 다음, dUTP(deoxy-Uracil Triphosphate)-digoxigenin을 포함하는 equilibration buffer 를 첨가하고 TdT 효소를 각 절편 위에 점적한 후 섭씨 37도에서 1시간 동안 배양하였다. 다시 슬라이드를 stop/wash buffer 에 넣어 반응을 종료시킨 뒤, 다시 세척을 한 후 anti-digoxigenin-peroxidase를 슬라이드 위에 첨가하였다. 슬라이드를 세척하고 0.05% diaminobenzidine substrate 용액을 첨가하

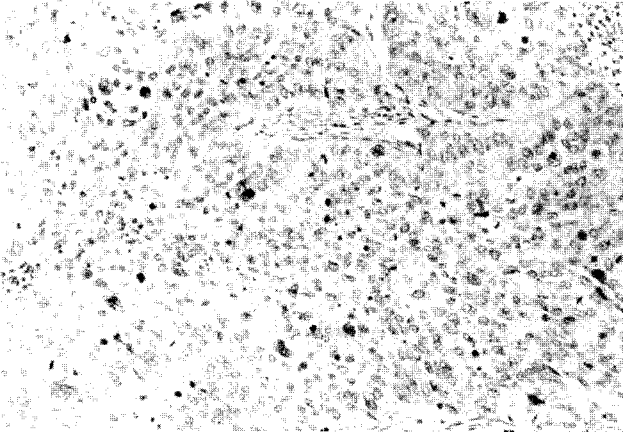


Fig. 1. Apoptotic cells in squamous cell carcinoma(HE: x 200). Apoptotic cells are stained brown. Apoptotic cells contain round and condensed nuclei. They are stained by terminal deoxy-nucleotidyl transferase method(Apop Tag in situ Detection Kit).

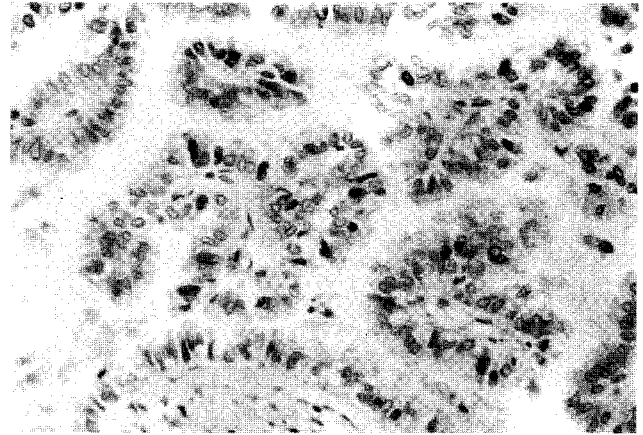


Fig. 2. Apoptotic tumor cells in adenocarcinoma(HE x 400). Apoptotic tumor cells are stained brown. Apoptotic tumor cells contain round and condensed nuclei. They are stained by deoxy-nucleotidyl terminal transferase method(Apop Tag in situ Detection Kit).

였고 다시 증류수로 세척한 후, Hematoxylin으로 대조 염색하였다^{14, 15)}.

아포프토시스 지수의 측정 : 아포프토시스 지수는 모든 종양 세포 수에 대한 아포프토시스 염색에 대해 양성으로 나타나는 세포나 소체 수의 비율로 하였다. 피사가 없는 부분을 최소한 5군데를 골라 광학 현미경 시야 400배에서 3000개의 세포를 세어 그 비율을 측정하였다. 아포프토시스 세포는 염색질이 농축되고, 인이 붕괴되어 있고 핵의 변연부에 염색질이 농축되어 초생달 모양을 형성하고 있는 세포이다¹⁵⁾. 아포프토시스 소체는 갈색으로 진하게 염색되며, 직경이 4 마이크로미터 이상되는 크고 둥근 핵 잔유물이 소체 내, 외에 관찰되었다. 염색에 양성인 종양 세포나 소체는 종양의 실질 조직내에 존재하는 것만을 선택하였고, 선 구조물의 내강에 존재하는 것은 다른 세포에서 기인한 것일 가능성이 있기 때문에 제외하였다(Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3).

종양내 미세 혈관 밀도의 염색 방법 : 종양내의 신생 혈관을 관찰하여 종양내 미세 혈관 밀도(Intratumoral microvessel density, IMVD)측정하기 위하여 혈관의 내피 세포와 특이적으로 반응하는 anti-CD 31 monoclonal 항체를 이용하였다. CD 31은 avidin-biotin-peroxidase 방법을 이용하여 면역 조직학적으로 염색하였다. 박절하여 준비된 슬라이드를 1:20으로 희석된 anti CD 31 monoclonal 항체(DAKO, Denmark)와 반응시킨 후, 섭씨 4도에서 6시간 동안 배양한 후 세척하였다. Biotinylated goat antimouse immunoglobulin (1 : 150 으로 희석, DAKO A/S)을 첨가하고 실온에서 30분간 방치하였다. Streptavidin peroxidase 용액으로 1시간 동안 처리한 후, Diaminobenzine을 사용하여 염색 발현을 유도하고,

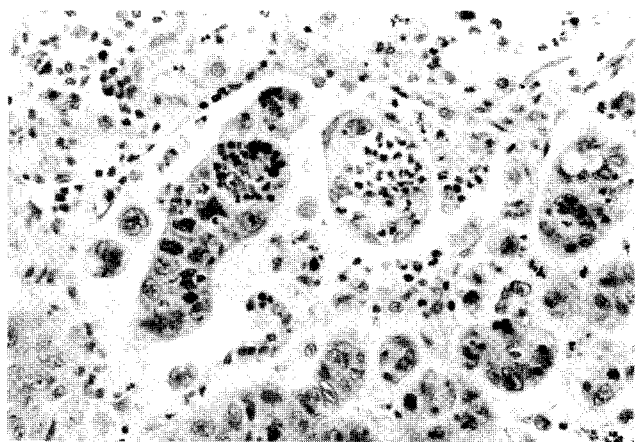


Fig. 3. Apoptotic bodies in adenocarcinoma(HE: x400). Apoptotic bodies are stained brown and they have round cell membrane. They look like brown foreign particles.

Hematoxylin으로 대조 염색을 시행하였다.

종양내 미세 혈관 밀도의 측정 : 신생 혈관 수의 측정은 Bosari등¹⁶⁾의 방법에 따랐다. 인접 세포군과 명백하게 분리되는 한 개의 내피 세포 혹은 내피 세포군을 하나의 혈관으로 세었다. 혈관이 내강을 가진 경우에는 적혈구를 8개 이상 포함하거나 근육층을 가지는 큰 혈관은 신생 혈관이 아닌 것으로 판단하여 제외하였다. 염증이나 피사, 섬유화가 심한 부위는 제외시켰다. 정상 조직과 인접하여 나타나는 종양의 변연부 중 혈관이 가장 많은 부위 다섯 군데에서 광학 현미경 200배 시야에서 측정하였으며 그 합계를 종양내 미세 혈관 밀도(IMVD, intratumoral microvessel density)로 삼았

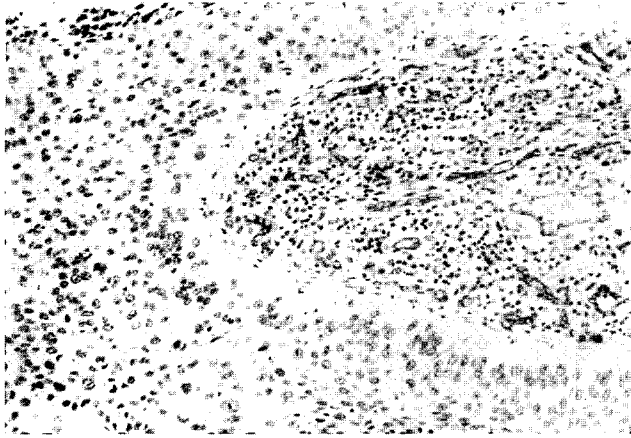


Fig. 4. Intratumoral microvessels in squamous cell carcinoma (x 200). Microvessels are ellipsoid or round in shape. They are stained red brown with anti CD-31 monoclonal antibody

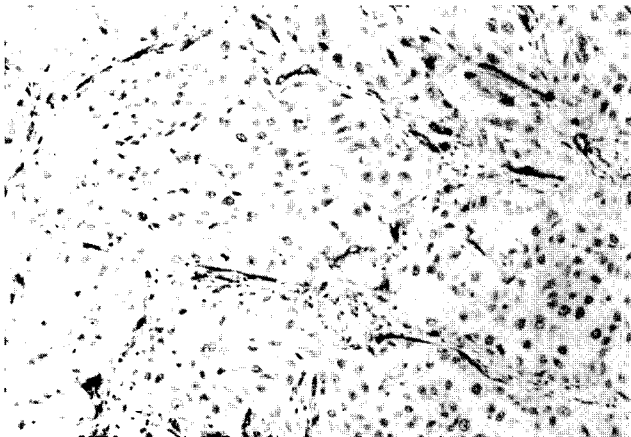


Fig. 5. Intratumoral microvessels in adenocarcinoma(x 200). Vessels are ellipsoid. They are stained red. They are stained with anti CD-31 monoclonal antibody.

다(Fig. 4, Fig. 5).

측정의 편견을 줄이기 위하여 각 대한 슬라이드의 검사는 환자의 임상 정보를 모르는 상태에서 시행되었다. 그리고 저자와 해부 병리과 전문의 1인이 같이 관찰하여 의논하여 측정값을 구하여 관찰 오류를 줄였다.

통계학적 분석 : 두 변수 즉, 아포프토시스 지수와 종양내 미세 혈관 밀도 사이의 상관관계는 Spearman 방법에 의하여 Spearman rank correlation coefficient, r을 구하였고, p 값이 0.05이하일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판단하였다. 두 수치의 상관관계의 검정은 단순회귀분석을 이용하였다. 통계적인 처리는 SPSS(Window version 7.0)를 이용하였다.

Table 1. Apoptotic indices (AI) in non-small cell lung cancer.

Histologic type (Number of cases)	Average (± Standard deviation)
Squamous cell carcinoma (54)	0.94 ± 1.20
Adenocarcinoma (45)	0.4 ± 0.67
Bronchiolo-alveolar cell carcinoma (5)	0.1 ± 0
Total (104)	0.69 ± 0.96

결 과

아포프토시스 지수 : 아포프토시스 양성으로 염색된 레는 104례 중 52 례(49.52 %) 이었다. 아포프토시스 지수는 평균 $0.69 \pm 0.96\%$ 이었다. 종양의 조직형에 따라 구분하여 보면 편평세포암종의 아포프토시스 지수는 $0.94 \pm .20\%$ 이었고, 선암종의 지수는 $0.4 \pm 0.67\%$, 기관지-폐포 세포암종은 $0.1 \pm 0\%$ 이었다. 편평세포암종이 지수는 선암종이나 기관지-폐포 세포암종보다 높았으나 통계적으로 유의하지는 않았다(Table. 1).

종양내 미세 혈관 밀도 : 전체 종양의 평균 미세 혈관의 수는 79.18 ± 36.76 개 이었다. 종양의 조직형에 따라 보면 편평세포암종이 75.62 ± 38.15 개이었고, 선암종이 82.38 ± 35.77 개, 기관지-폐포 세포암종이 114.00 ± 48.27 개이었다. 선암종이나 기관지-폐포 세포암종이 편평세포암종보다 혈관의 밀도가 높았으나 통계적으로 유의하지는 않았다(Table 2).

아포프토시스 지수와 종양내 미세 혈관 밀도와의 상관관계: 전체 종양의 아포프토시스 지수와 종양내 미세혈관의 밀도 사이에는 통계적으로 유의한 역 상관관계가 있었다(Spearman rank correlation coefficient $r = - 0.188, p = 0.045$)(Fig. 6).

단순회귀분석으로 전체 종양에서의 관계는 $AI = - 0.005209 \times IMVD + 1.100999$ 이었다. 종양의 조직형에 따른 분석을 시행하였더니, 편평세포암종에서는 두 수치 사이에 유의한 역 상관관계가 있었다(Spearman rank correlation coefficient $r = - 0.229, p = 0.047$)(Fig. 7). 단순회귀분석을 이용한 두 변수의 관계는 $AI = - 0.007037 \times IMVD + 1.452897$ 이었다. 선암종에서는 두 변수 사이에 통계적인 유의성이 없었다(Spearman rank correlation coefficient $r = 0.119, p = 0.466$)(Fig. 8). 기관-폐포 세포암종의 경우는 5례 모두 혈관이 많은 반면 아포프토시스가 거의 발견되지 않아서 통계적 처리가 불가능하였다.

Table 2. Intratumoral microvessel densities(IMVD) in non-small cell lung cancer.

Histologic type (Number of cases)	Average (± Standard deviation)
Squamous cell carcinoma (54)	75.62 ± 38.15
Adenocarcinoma (45)	82.38 ± 35.77
Bronchiolo-alveolar cell carcinoma (5)	114.00 ± 48.27
Total (104)	79.18 ± 36.76

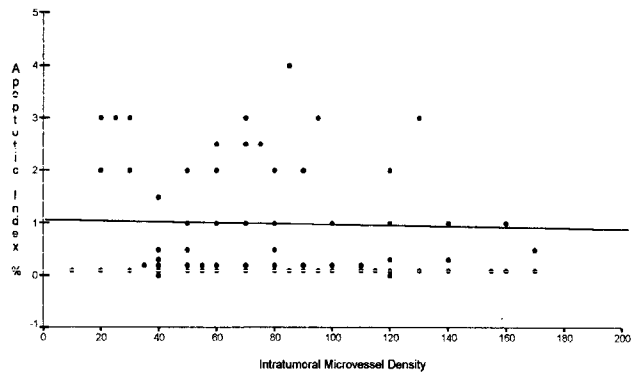


Fig. 6. A scatter diagram shows relationship between apoptotic index(%) and intratumoral microvessel density(IMVD) in non-small cell lung cancer. Spearman rank correlation coefficient $r = -0.188$, $p = 0.045$. $AI = -0.005209 \times IMVD + 1.100999$.

고찰

아포프토시스는 모든 유기체 세포의 예정된 세포사이다. 여기에 관심을 갖는 것은 그 과정과 영향 인자를 이해하고 조절함으로써 종양을 치료할 수 있는 가능성에 대한 기대 때문이다¹⁾.

저자는 수술적으로 절제하여 조직을 구할 수 있었던 비소세포성 폐암에서 아포프토시스의 비율을 구하고자 하였다.

그 방법으로는 DNA 절편을 terminal deoxynucleotidyl transferase를 이용하여 염색하는 방법을 이용하였는데, 다른 연구자들도 사용하는 보편적인 방법이었다. 저자는 Apop Tag In Situ Apoptosis Detection Kit(ONCOR)를 사용하여 아포프토시스 세포를 염색할 수 있었다.

본 연구에서 아포프토시스 세포 및 소체를 정확히 관찰하는 데 어려움이 있었다. 광학 현미경 하에서 관찰할 때, 아포프토시스라고 정의된 세포 및 소체와 형태학적으로 비슷한 크기와 모양의 다른 세포가 많이 존재하였기 때문이다. 그리고 아포프토시스를 측정하기 위해 괴사가 없는 곳이면서 종양 세포가 많이 존재하는 곳을 선택하였는데, 이 곳을

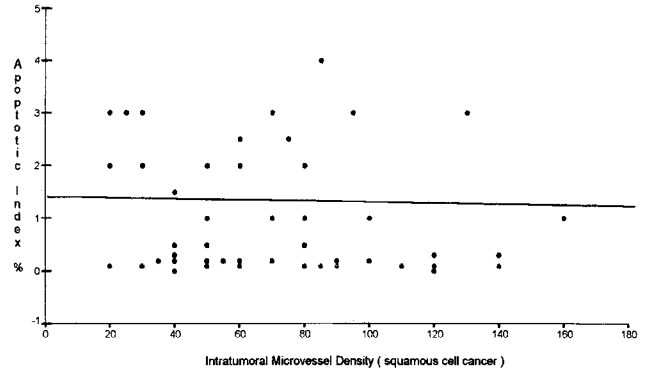


Fig 7. Scatter diagram shows relationship between AI and IMVD in squamous cell carcinoma of the lung. Spearman rank correlation coefficient $r = -0.229$, $p = 0.047$. $AI = 0.007037 \times IMVD + 1.452897$.

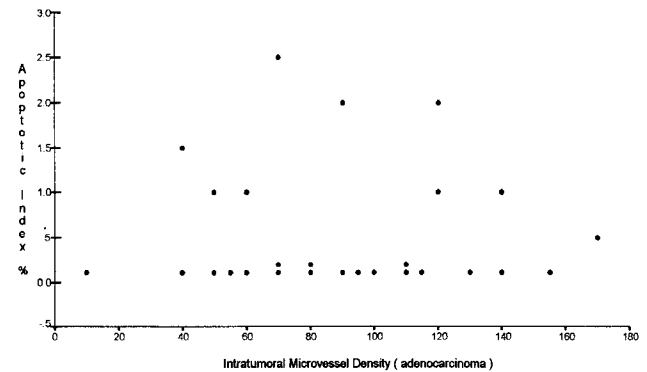


Fig 8. Scatter diagram shows relationship between AI and IMVD in adenocarcinoma. Spearman rank correlation coefficient $r = 0.119$, $p = 0.466$.

판단하는데 관찰자에 따라 차이가 있었고, 이 점은 다른 논문에서도 지적되는 바이었다¹⁷⁾. 저자는 객관적인 관찰을 유도하기 위하여 해부 병리과 전문의와 저자가 염색한 조직 슬라이드를 같이 보면서 세포를 하나 하나 관찰하여 아포프토시스 세포가 그 정의에 합당한지를 구별하여 측정하였다.

미세 혈관의 측정을 위한 염색 방법에는 immunoperoxidase technique으로 혈관의 내피층에 존재하는 factor VIII 를 염색하는 방법과 혈관의 내피층의 항원과 직접 반응하는 monoclonal 항체를 이용하는 방법이 있다. Factor VIII을 이용하는 방법은 정상 조직에서는 염색이 잘 되는 데 반하여, 혈관종이나 유육종 등의 종양에서는 염색이 잘 되지 않는 단점이 있다. 반면, anti CD 31 monoclonal Ab를 사용하는 경우에는 직접 혈관의 내피에 존재하는 항원에 선택적으로 염색이 되기 때문에 더 특이하게 혈관을 잘 염색할 수 있고, anti CD 34 monoclonal Ab 보다 더 특이적인 것으로 보고 되

었다¹⁸⁾.

저산소증과 아포프토시스의 사이의 관계는 여러 실험적인 연구를 통해서 밝혀졌다. 초기의 종양 세포는 충분한 영양과 산소를 공급받아 성장을 하게 된다. 그러나 혈관이 종양 세포에 충분한 영양분과 산소 공급을 할 수 없을 정도로 종양 세포 수가 일정수 이상 증가되면 종양 세포의 예정된 세포사로 인하여 전체적인 세포의 수가 일정하게 유지하게 된다. 이 때 종양 세포의 수가 증가하지 못하는 중요한 작용기전으로 생각되는 것이 혈관 생성의 장애로 인한 아포프토시스의 증가이다^{6,10,11)}.

저자가 관심을 가지는 것은 아포프토시스의 생성과 미세혈관의 생성과의 관계이다. 종양의 급속한 성장이 종괴내의 저산소증을 유발하게 되면, 혈관 내피 성장 인자(VEGF, Vascular Endothelial Growth Factor)가 분비되어 혈관의 신생을 촉진하게 된다¹⁰⁾. 성장인자에 의한 혈관 신생의 촉진으로 종양세포는 아포프토시스가 일어나지 않고 잘 성장하겠지만, 성장 인자의 부족으로 신생 혈관이 생성되지 않는다면 종양은 성장하지 못하고 종양 세포의 일부에 아포프토시스가 일어나서 종양의 크기는 줄어들게 된다.

저산소 상태가 되면, 모세 혈관 세포의 증식을 유발하게 하고 또한, 섬유 아세포 성장 인자, 헤파린과 연관된 상피 성장 인자 혹은, 대식세포나 섬유 세포에서 분비되는 인자로 인하여 종양세포에서 신생 혈관의 생성을 촉진시키게 된다. 종양이 생성하는 성장 인자로 인하여 종양 세포에서 대량의 아포프토시스가 방지 된다는 보고가 있다^{19,20)}.

혈관의 생성과 종양 성장의 불균형에 의해 종양세포의 저산소증이 발생하게 되는데, 저자는 이런 저산소증의 상태에서 종양내 아포프토시스의 발생 정도와 신생 혈관의 밀도를 각각 측정하여 세포사의 정도와 신생 혈관의 생성과의 관계를 밝히려 하였다.

저자는 이 연구에서 비소세포성 폐암 조직에서 아포프토시스와 신생 혈관의 정도의 관계를 밝히고자 하였다. 이 실험의 결과 편평세포암종 내에서는 신생 혈관 생성과 아포프토시스 사이에는 유의한 역 상관관계가 있었다. 이 결과 종양내의 미세 혈관의 발달이 종양 세포의 아포프토시스의 발생에 영향을 미친다고 유추할 수 있다. 그러나 아포프토시스에 영향을 미치는 인자들은 외적인 자극 외에도 여러 인자들이 많이 존재하기 때문에 다른 인자의 영향에 대한 연구도 뒤따라야 할 것으로 생각한다.

본 연구에서 폐암 조직내의 아포프토시스의 발생 정도가 Lu등이¹²⁾ 발표한 위암에서의 아포프토시스 발생 정도에 비해 더 적게 관찰되었다. 저자는 이 차이를 위암에 비해 폐암의 경우 더 풍부한 산소의 공급이 이루어지고 있고, 폐암에서는 종양의 성장시 주위 조직으로부터의 압력이 적게 작

용하여 아포프토시스가 적게 일어난 것으로 생각하였다.

저자의 연구에서는 수술적으로 절제가 가능하여 조직을 얻을 수 있는 비소세포성 폐암을 대상으로 아포프토시스와 종양내 미세 혈관의 밀도를 측정하고 두 변수의 역 상관관계를 측정하였고, 통계학적으로 유의하였지만, 그 상관관계는 미약하였다. 그래서 저자는 더 많은 증례에서의 관찰과 계속적인 연구가 필요할 것으로 생각한다. 또, 소세포성 암종을 포함한 모든 폐암에서 이 관계가 성립되는지가 연구되어야 하겠다. 현재까지 밝혀진 바에 의하면, 위암 조직에서만 아포프토시스의 빈도와 미세 혈관 밀도와와의 관계가 보고되었기 때문에 다른 인체 암종에서의 두 수치의 비교 연구가 필요하리라 생각된다.

결 론

폐암 조직에서 아포프토시스와 종양내 미세 혈관 밀도와의 관계를 밝히고자 하였다. 그 결과 폐암 조직내의 아포프토시스의 발생은 종양내 미세 혈관의 밀도와 역 상관관계를 가졌다(Spearman rank correlation coefficient, $r = -0.188$, $p = 0.045$).

아포프토시스와 종양내 미세 혈관 밀도 사이의 관계는 폐암의 조직형에 따라 다르게 나타났다. 편평세포암종의 경우 통계적으로 유의하게 역 상관 관계가 존재하였다(Spearman rank correlation coefficient $r = -0.229$, $p = 0.047$). 그러나 선암종은 유의한 상관관계를 보이지 않았다(Spearman rank correlation coefficient $r = 0.119$, $p = 0.466$).

이 결과 종양의 혈관 생성은 종양내의 아포프토시스를 억제하는 요인이 될 수 있다고 생각한다.

참 고 문 헌

1. Thompson CG. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Science 1995;267:1456-62.
2. White E. Life, death, and the pursuit of apoptosis. Genes Dev 1996;10:1-15.
3. Graeber TG, Osmanian C, Janks T, et al. Hypoxia-mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumors. Nature 1996;379:88-91.
4. Hoffman B, Liebermann DA. Molecular controls of apoptosis differentiation growth arrest primary response genes, proto-oncogenes, and tumor suppressor genes as positive and negative modulators. Oncogene 1994;9:1807-12.
5. Bedi A, Pasricha PJ, Akhtar AJ, et al. Inhibition of apoptosis during development of colorectal cancer. Cancer Res 1995;55:1811-16.
6. Hanahan D, Folkman J. Patterns and Emerging Mechanisms of the Angiogenic Switch during Tumorigenesis. Cell 1996;86:353-64.

7. Williams GT, Smith CA. *Molecular Regulation of Apoptosis : Genetic Controls on Cell Death*. Cell 1993;74:777-9.
8. Folkman J. *What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent ?*. Natl Cancer Inst 1990;82:4-6.
9. Folkman J. *Clinical applications of research on angiogenesis*. N Engl J Med 1995;333:1757-63.
10. O'Reilly MS, Holmgren L, Chen C, Folkman J. *Angiostatin induces and sustains dormancy of human primary tumor in mice*. Nat Med 1996;2:689-92.
11. Holmgren L, O'Reilly MS, Folkman J. *Dormancy of micro-metastases balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression*. Nat Med 1995;1:149-53.
12. Lu C, Tanigawa N. *Spontaneous apoptosis is inversely related to intratumoral microvessel density in gastric carcinoma*. Cancer Res 1997;57:221-4.
13. 보건사회부. 한국인 암 등록 조사 자료 분석 보고서. 대한암학회지 1989;21:151-216.
14. Ansari B, Coates PJ, Greenstein BD, Hall PA. *In situ end-labeling detects DNA strand breaks in apoptosis and other physiological and pathological states*. J Pathol 1993;170:1-8.
15. Brooks PC, Montgomery AMP, Rosenfeld M, et al. *Integrin 3 antagonists promote tumor regression by inducing apoptosis of angiogenic blood vessels*. Cell 1994;79:1157-64.
16. Bosari S, Lee AK, Delellis RA, Wiley BD, Heatly GJ, Silverman ML. *Microvessel quantitation and prognosis in invasive breast carcinoma*. Hum Pathol 1992;23:755-61.
17. Lipponen PK, Altoma S. *Apoptosis in bladder cancer as related to standard prognostic factors and prognosis*. J Pathol 1994;173:333-9.
18. Fontanini G, Vignati S, Bigini D, et al. *Neoangiogenesis : A Putative Marker of Malignancy in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Development*. Int J Cancer 1996;67:615-9.
19. Baserga R. *Oncogenes and the strategy of growth factors*. Cell 1994;79:927-30.
20. Tanaka S, Wands JR. *Insulin receptor substrate overexpression in human hepatocellular carcinoma cells prevents transforming growth factor β 1-induced apoptosis*. Cancer Res 1996;56:3391-4.

=국문초록=

배경: 많은 실험적인 연구에서 종양 조직 내의 아포프토시스와 미세 혈관의 생성은 서로 반비례한다고 보고 된다. 비소세포 폐암 조직내에서 두 수치의 관계를 조사하여 보았다. **대상 및 방법:** 조직내의 아포프토시스의 정도는 deoxynucleotidyl transferase 방법으로(Apop Tag In Situ Apoptosis Detection Kit, ONCOR) 측정하였고, 종양내 미세 혈관 밀도는 항 CD 31 항체를 이용하였다. **결과:** 아포프토시스 지수와 종양내 미세 혈관 밀도 사이에는 통계적으로 유의하게 역 상관관계가 있었다($p = 0.047$). **결론:** 비소세포 폐암종에서 아포프토시스와 미세 혈관 생성의 정도는 서로 연관이 있다고 할 수 있다. 그리고 종양내의 신생 혈관의 생성이 종양내 아포프토시스의 억제에 기여한다고 유추 할 수 있다.

중심단어: 1. 폐암
2. 조직학
3. 혈관생성