

## 타액선 종양에서 VEGF의 발현 및 미세혈관밀도의 의의

한양대학교 의과대학 이비인후과학교실,\* 병리학교실\*\*

박철원\* · 김수영\* · 태 경\* · 김경래\* · 이형석\* · 백승삼\*\* · 박용욱\*\*

= Abstract =

### VEGF Expression and Microvessel Density in Salivary Gland Tumor

Chul Won Park, M.D.,\* Su Young Kim, M.D.,\* Kyung Tae, M.D.,\* Kyung Rae Kim, M.D.,\*  
Hyung Seok Lee, M.D.,\* Seung Sam Paik, M.D.,\*\* Yong Wook Park, M.D.\*\*

Department of Otolaryngology,\* Pathology,\*\* College of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea

**Objectives** : Angiogenesis is the process of new blood vessel development from preexisting vessel. The growth of tumor is dependent on angiogenesis. This study was aimed to determine the role of the VEGF expression and MVD (microvessel density) in salivary gland tumors and to analyze the correlation between the expression of VEGF/MVD, and clinical manifestation.

**Material and Methods** : We analyzed the expression of VEGF and average MVD and neo-MVD in the 57 cases of salivary gland tumors by immunohistochemistry.

**Results** : VEGF expression was higher in malignant tumors than in benign tumors. Average and neo-MVD were not different in benign tumor and malignant tumor. There was a tendency of positive correlation between VEGF expression and MVD but it was not statistically significant. Stage, T stage and recurrence rate were not correlated with VEGF expression, average-MVD and neo-MVD. Expression of VEGF, average-MVD and neo-MVD were significantly increased in Warthin's tumor compared with pleomorphic adenoma.

**Conclusion** : Overexpression of VEGF has an important role in malignant salivary gland tumors.

**KEY WORDS** : Salivary gland neoplasms · VEGF · CD34 · Ki67.

## 서 론

신생혈관생성은 기존의 모세혈관에서 새로운 모세혈관이 형성되는 것으로 조직의 정상적인 성장과 발달에 필수적인 과정이다. 이는 태생기의 발육과정, 배란, 창상 치유과정 등에서 정상적인 과정의 일부분으로 나타나지만 조절되지 않는 신생혈관형성은 병적과정일 수 있다<sup>1)</sup>. 종양의 성장이나 원격전이를 일으키기 위해서는 새로운 혈관이 형성되어야 하고 이 혈관을 통하여 혈형성 원격 전이를 가능하게 하므로 신생혈관형성은 암종의 전이에 필수적인 것으로 알려져

있다<sup>1)2)</sup>.

신생혈관생성은 protease의 유출로 국소 소정맥의 세포외 기질의 분해, 모세혈관 내피세포의 증식, 모세혈관 미세관의 이주로 구성되는 일련의 과정이며 신생혈관생성의 조절은 이를 촉진하는 인자와 억제하는 인자간의 차이에 의해 결정된다<sup>3)</sup>. 신생혈관생성을 촉진하는 인자 중에서 VEGF (vascular endothelial growth factor)는 종양세포에서 미세 혈관의 투과성을 증가시키고, 혈관내피세포의 이주와 증식을 직접적으로 자극하므로 신생혈관형성에서 가장 중요한 인자 중 하나이다<sup>4)</sup>. VEGF는 갑상선의 정상조직에서보다 종양조직 내에서 훨씬 높게 발현되며<sup>5)</sup>, 두경부 종양에서 암의 분화도가 나뉠수록 VEGF 발현이 증가된다고 보고되고 있다<sup>6)</sup>.

종양의 혈관형성을 평가하는 일반적인 방법은 면역조직화학 염색으로 종양내 미세혈관밀도(microvessel density, MVD)를 측정하는 것이며, blood group isoantigen (ABH),

교신저자 : 태 경, 471-701 경기도 구리시 교문동 249-1  
한양대학교 의과대학 이비인후과학교실  
전화 : (031) 560-2363 · 전송 : (031) 566-4884  
E-mail : kytae@hanyang.ac.kr

factor VIII-related antigen, CD31, CD34 등의 혈관내피세포에서 선택적으로 발현되는 항원들을 이용할 수 있다.

미세혈관밀도는 피부 악성 흑색종, 유방암, 비소세포성 폐암 등 인간의 여러 악성 종양에서 원격전이 및 생존율을 예측할 수 있는 지표로 보고 되었으며 미세혈관밀도가 높은 경우 원격전이를 잘 일으키며 나쁜 예후 및 낮은 생존율과 연관이 있다고 보고되었다<sup>7)</sup>.

이에 저자들은 타액선 양성 및 악성종양에서 VEGF의 발현과 미세혈관밀도를 측정하여 타액선 종양에서 VEGF의 역할 및 신생혈관생성의 의의를 알아보하고자 본 연구를 시행하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 연구대상

1990년 3월부터 2004년 6월까지 타액선종양으로 수술을 받은 환자 중 조직의 파라핀 종괴의 보관이 양호하고 추적 관찰이 가능하였던 57예를 연구대상으로 하였다. 남여의 비는 동일하였고 평균연령은 49세(18~70세)였다. 양성종양은 30예, 악성종양은 27예였다. 양성종양은 다형선종 17예(56.7%), Warthin 종양 11예(36.7%), 기저세포선종 2예(6.7%)였다. 악성종양은 점액표피양암종 8예(28.6%), 선암종 6예(21.4%), 선양낭성암종 6예(21.4%), 다형선종유래암종 5예(21.4%), 선방세포암종 1예(3.6%), 편평세포암종 1예(3.6%)였다.

### 2. 연구방법

#### 1) 면역조직화학적 염색

VEGF 발현의 측정은 VEGF에 대한 단클론항체를 이용한 면역조직화학염색법을 이용하였다. 수술시 절제한 타액선 종괴를 10% 중성 포르말린에 고정한 후 파라핀에 포매 후 조직표본을 4 $\mu$ m 두께의 절편으로 박절하여 L-lysine coated slide에 고정하여 사용하였다. 파라핀에 포매되어 있는 슬라이드를 65 $^{\circ}$ C 보온기에 밤새 처리하였으며 100% xylene에서 10분간 2회 탈 파라핀 과정을 거쳤다. 슬라이드는 100%, 90%, 70%, 30% 에탄올에 각 10분, 5분, 5분, 5분씩 처리하는 합수과정을 거친 후 증류수로 세척하였다. 내인성 peroxidase를 억제하기 위하여 메탄올과 30% 과산화수소가 4:1의 비율로 섞인 용액에 15분간 처리하고 Tris-buffered saline(이하 TBS, pH7.0)으로 3회 수세하였다. 항원성 회복을 위하여 pH6.0 citric acid 용액에 담그고 microwave에서 15분 정도 가열하였다. 30분 정도 상온에서 방치하여 식힌 후 TBS에 3회 세척하였다. Blocking 항체(ABC kit, Vector Laboratories, Burlingame, CA)를 도포하여 37 $^{\circ}$ C에서 30분 반응시킨 후 TBS 용액에 3회 세척하였다.

VEGF에 대한 단클론 항체(Santa Cruz Biotechnology,

CA, USA)를 슬라이드에 도포하고 4 $^{\circ}$ C에서 밤새 반응시킨 후 TBS에 세척하였고, 이차 항체를 도포하여 37 $^{\circ}$ C에서 30분을 반응시킨 후 재차 세척하였다. ABC(Avidin-biotin complex, Vectastain, CO, USA)를 도포하고 37 $^{\circ}$ C에서 30분을 반응시킨 후 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB)로 발색한 후 universal mount를 이용하여 봉입하였다.

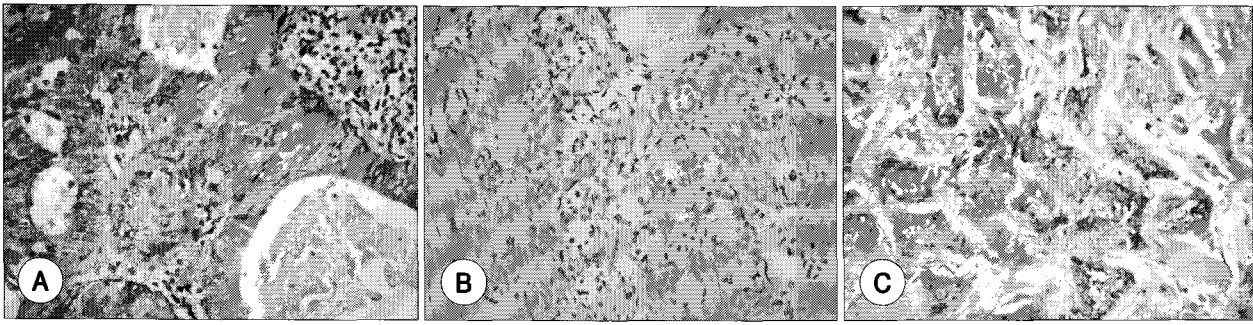
미세혈관밀도는 혈관내피세포의 세포막에 특징적으로 존재하는 CD34에 대한 항체를 이용하였으며, 현재 증식 중인 신생혈관을 측정하기 위하여 Ki67에 대한 항체를 같이 이용하여 이중면역조직화학법을 실시하였다. 슬라이드의 전처리는 VEGF와 같은 과정으로 처리한 후, Ki67에 대한 단클론 항체(NeoMarker, CA, USA)를 도포하여 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 반응시킨 후 TBS에 세척하였으며, 이차 항체를 도포하여 반응시킨 후 재차 세척하였다. ABC(Avidin-biotin complex, Vectastain, CO, USA)를 도포하여 37 $^{\circ}$ C에서 30분을 반응시킨 후 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl phosphate and nitro blue tetrazolium chloride(BCIP/NBT, DAKO, USA)로 발색하였다. Ki67에 대한 염색이 끝난 슬라이드를 TBS에 세척한 후 다시 CD34에 대한 단클론 항체(NeoMarker, CA, USA)를 도포하고 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 반응시킨 후 TBS에 세척하였으며, 이차항체를 도포하여 반응시킨 후 재차 세척하였다. 다시 ABC를 도포하고 3-Amino-9-Ethylcarbazole(AEC)로 발색한 후 universal mount를 이용하여 봉입하였다.

#### 2) VEGF 발현 및 미세혈관밀도의 측정

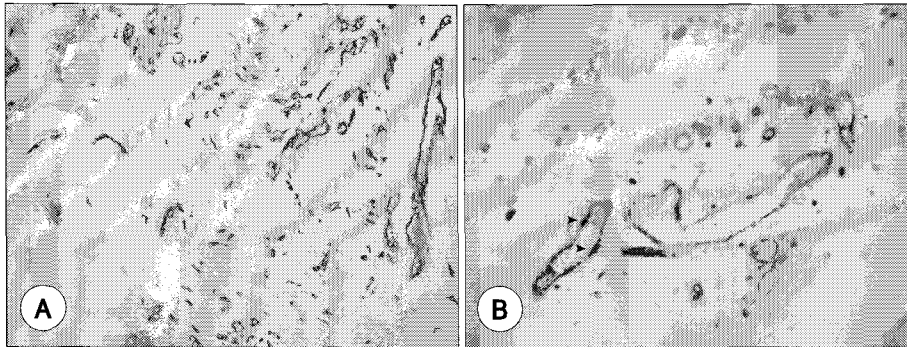
동일한 부위의 다른 슬라이드를 헤마톡실린-에오신으로 염색하고 종양이 있는 부분을 슬라이드에 표시한 후 항 VEGF 항체 및 항 CD34와 Ki67 항체를 이용하여 면역조직화학법으로 염색한 슬라이드를 겹쳐서 종양이 있는 동일한 부분을 표시하였다.

VEGF의 발현은 저배율로( $\times 100$ )로 관찰하면서 염색이 잘 되어 있는 부분을 선정하여 400배의 확대시야에서 관찰하고 세포핵과 구별되어 세포질이 갈색으로 염색되는 경우를 양성으로 판정하였으며 한 시야에서 종양세포 중 양성세포의 비율을 백분율로 표시하였다. VEGF 발현율이 10%미만인 경우를 음성이라 하였고, 10% 이상인 경우를 VEGF 양성으로 판정하였다. 양성을 VEGF 발현 정도에 따라 10%이상 40%미만인 경우 1+, 40%이상 70%미만인 경우 2+, 70%이상인 경우 3+로 각각 분류하였다(Fig. 1).

평균미세혈관밀도(average MVD)는 200배 시야에서 무작위로 3개의 시야를 골라 CD34에 의해 혈관 내피 세포의 세포막이 붉은색으로 염색된 혈관의 개수를 측정한 후 그 평균값으로 하였다. 신생미세혈관밀도(neo MVD)는 CD34



**Fig. 1.** Immunohistochemical staining of VEGF in salivary gland tumor. A : positive staining of VEGF in Warthin's tumor ( $\times 400$ ). B : negative staining of VEGF in pleomorphic adenoma ( $\times 400$ ). C : positive staining of VEGF in carcinoma ex pleomorphic adenoma ( $\times 400$ ).



**Fig. 2.** Double immunohistochemical demonstration of CD34 & Ki67 expression on vascular endothelial cell. A : The vascular endothelial cells were stained brown with CD34 in adenocarcinoma ( $\times 200$ ). B : Newly proliferating microvessels were stained with CD34 and Ki67 in cytoplasm and nucleus of vascular endothelial cells simultaneously in mucoepidermoid carcinoma ( $\times 400$ ). Arrow shows positive staining of Ki67.

로 염색된 혈관내피세포 중 Ki67에 의해 핵이 동시에 진한 남색으로 염색되는 현재 중식 중인 신생미세혈관의 밀도를 가르키며 신생미세혈관의 수가 가장 많은 부분을 골라 광학 현미경 400배의 한 시야에서 측정된 신생미세혈관의 수로 정의하였다(Fig. 2).

### 3) 통계처리

평균미세혈관밀도, 신생미세혈관밀도 및 VEGF 발현율과 종양의 크기, 종양의 병기, 재발과의 관계는 Pearson correlation으로 SPSS version 10.00을 이용하여 각각 분석하였으며, 통계학적 유의수준은  $p < 0.05$ 로 정하였다.

## 결 과

### 1. VEGF 발현

양성종양 30예 중 11예(36.7%)에서 VEGF 음성이었고, 19예(63.3%)에서 VEGF 양성이었다. VEGF 양성인 양성종양 19예 중 1+가 4예(13.3%), 2+가 7예(23.3%), 3+가 8예(26.7%)였다. 악성종양 27예는 모두 VEGF 양성이었다. 악성종양 27예 중 1+가 5예(18.5%), 2+가 6예(22.2%), 3+가 16예(59.3%)였다. 양성종양과 악성종양에서의 VEGF 발현을 비교시 악성종양에서 통계적으로 유의

**Table 1.** VEGF expression in benign and malignant salivary gland tumors

	VEGF expression				Total
	Negative	1+	2+	3+	
Benign	11 (36.7%)	4 (13.3%)	7 (23.3%)	8 (26.7%)	30
Malignant	0	5 (18.5%)	6 (22.2%)	16 (59.3%)	27

VEGF : vascular endothelial growth factor,  $p < 0.001$

**Table 2.** VEGF expression in Warthin's tumor and pleomorphic adenoma

	VEGF Expression				Total
	Negative	1+	2+	3+	
Warthin's tumor	1 (9.1%)	2 (18.2%)	2 (18.2%)	6 (54.5%)	11
Pleomorphic adenoma	9 (52.9%)	2 (11.8%)	4 (23.5%)	2 (11.8%)	17

$p = 0.002$

하게 증가되었다( $p < 0.001$ ) (Table 1).

양성종양 중 다형선종 17예에서 VEGF 음성이 9예, 1+가 2예, 2+가 4예, 3+가 2예였으며, Warthin 종양 11예에서는 VEGF 음성이 1예, 1+가 2예, 2+가 2예, 3+가 6예로 Warthin 종양에서 다형선종과 비교하여 유의적으로 VEGF 발현이 증가되었다( $p = 0.022$ ) (Table 2).

### 2. 평균미세혈관밀도

양성종양과 악성종양에서 평균미세혈관밀도가 각각  $37.67 \pm$

**Table 3.** Average MVD in benign and malignant salivary gland tumors

	Average MVD
Benign tumor	37.67 ± 24.73
Malignant tumor	29.41 ± 18.55

MVD : microvessel density, p=0.157

**Table 4.** Average MVD in Warthin's tumor and pleomorphic adenoma

	Average-MVD
Warthin's tumor	61.09 ± 21.59
Pleomorphic adenoma	23.82 ± 14.79

p<0.001

**Table 5.** Average MVD in malignant salivary gland tumors

	Average-MVD
Mucoepidermoid carcinoma	28 ± 5.23
Adenocarcinoma	49.33 ± 25.77
Adenoid cystic carcinoma	21.50 ± 7.55
Ca ex pleomorphic adenoma	19.6 ± 19.78
Acinic cell carcinoma	12
Squamous cell carcinoma	35

p=0.012

**Table 6.** Neo-MVD in benign and malignant salivary gland tumors

	Neo-MVD
Benign	1.10 ± 1.788
Malignant	0.61 ± 1.257

p=0.293

**Table 7.** Neo-MVD in Warthin's tumor and pleomorphic adenoma

	Neo-MVD
Warthin's tumor	2.64 ± 2.203
Pleomorphic adenoma	0.18 ± 0.39

p=0.004

24.73, 29.41 ± 18.55으로 통계적으로 유의한 차이는 없었다(p=0.157) (Table 3).

양성종양 중에서 평균미세혈관밀도는 다형선종에서 23.82 ± 14.79, Warthin 종양에서 61.09 ± 21.59으로 Warthin 종양에서 통계학적으로 유의하게 평균미세혈관밀도가 증가되었다(p<0.001) (Table 4).

악성종양중에서 평균미세혈관밀도는 점액표피양암종은 28.00 ± 5.23, 선암종에서 49.33 ± 25.77, 선양낭성암종은 21.50 ± 7.55로 선암종에서 통계학적으로 유의하게 혈관밀도가 증가되었다(p=0.012) (Table 5).

### 3. 신생미세혈관밀도

양성종양과 악성종양에서 신생미세혈관밀도가 각각 1.10 ± 1.788, 0.61 ± 1.257로 통계학적으로 유의하지 않았다(p=0.293) (Table 6).

**Table 8.** Average MVD according to the expression of VEGF in benign and malignant salivary gland tumors

VEGF expression (n)	Average-MVD
Negative (11)	22 ± 11.34
1+ (9)	30.70 ± 15.84
2+ (13)	31.31 ± 22.02
3+ (24)	41.33 ± 25.81
Total (57)	33.59 ± 22.069

p=0.094

**Table 9.** Neo-MVD according to the expression of VEGF in benign and malignant salivary gland tumors

VEGF expression (n)	Neo-MVD
Negative (11)	0.36 ± 0.505
1+ (9)	0.22 ± 1.441
2+ (13)	1.23 ± 2.088
3+ (24)	1.21 ± 1.744
Total (57)	0.84 ± 1.565

p=0.229

양성종양 중에서 신생미세혈관밀도는 다형선종에서 0.18 ± 0.39, Warthin 종양에서 2.64 ± 2.203으로 Warthin 종양에서 유의하게 증가되었다(p=0.004) (Table 7).

악성종양 중에서 신생미세혈관밀도는 점액표피양암종에서 0.8 ± 1.436, 선암종에서 1.17 ± 1.602, 선양낭성암종에서 0.33 ± 0.516으로 각 암종간에 차이는 없었다(p=0.618).

### 4. VEGF발현과 평균미세혈관밀도

VEGF 음성인 11예와 VEGF 양성 46예(1+ 9예, 2+ 13예, 3+ 24예) 중 평균미세혈관밀도는 각각 22 ± 11.34, 30.70 ± 15.84, 31.31 ± 22.02, 41.33 ± 25.81로 VEGF 발현의 증가에 따라 평균미세혈관밀도가 증가하는 경향을 보였으나 통계학적 의미는 없었다(p=0.094) (Table 8).

### 5. VEGF발현과 신생미세혈관밀도

VEGF 음성인 11예와 VEGF 양성 46예(1+ 9예, 2+ 13예, 3+ 24예) 중 신생미세혈관밀도는 각각 0.36 ± 0.505, 0.22 ± 1.441, 1.23 ± 2.088, 1.21 ± 1.744로 VEGF 과발현 시 신생미세혈관밀도가 높았으나 통계학적으로 유의하지 않았다(p=0.229) (Table 9).

### 6. 병기와의 관계

악성종양 27예를 대상으로 2002년 AJCC에 의해 TNM stage를 결정하였다.

타액선암종의 병기를 나누어보면 총 27예 중 1기가 2예, 2기가 9예, 3기가 5예, 4기가 11예 있었으며 다른 장기로의 전이가 있었던 경우는 없었다. 병기에 따른 VEGF 발현율은 통계학적으로 유의하지 않았다(p=0.623).

병기에 따른 평균미세혈관밀도는 1기가 24 ± 5.65, 2기가 29 ± 13.53, 3기는 45.4 ± 32.19, 4기가 23.45 ± 12.57로

서로 상관성이 없었다( $p=0.169$ ).

병기에 따른 신생미세혈관밀도는 1기에서는 0, 2기는  $0.44 \pm 0.72$ , 3기가  $1.2 \pm 1.78$ , 4기는  $0.64 \pm 1.50$ 로 통계학적 유의성이 없었다( $p=0.667$ ).

T 병기에 대하여 VEGF 발현과 평균미세혈관밀도 및 신생미세혈관밀도를 비교하였다. 전 27예 중 1기가 2예, 2기가 10예, 3기라 5예, 4기가 10예 였으며 VEGF 발현율과는 통계학적 유의성이 없었다( $p=0.589$ ).

T 병기에 따른 평균미세혈관밀도는 1기가  $24 \pm 5.65$ , 2기가  $28.4 \pm 12.90$ , 3기는  $45.4 \pm 32.19$ , 4기가  $23.5 \pm 13.25$ 로 서로 상관성이 없었다( $p=0.177$ ).

T 병기에 따른 신생미세혈관밀도는 1기에서는 0, 2기는  $0.4 \pm 0.69$ , 3기가  $1.2 \pm 1.78$ , 4기는  $0.7 \pm 1.56$ 로 통계학적 유의성이 없었다( $p=0.631$ ).

## 7. 재발과의 관계

악성종양 27예 중 재발한 경우는 13예였다. VEGF 발현과의 관계를 보면 1+가 0예, 2+가 3예, 3+가 10예로 VEGF 발현이 증가할수록 재발율이 높아지는 경향을 보였으나 통계학적 유의성은 없었다( $p=0.56$ ).

평균미세혈관밀도를 비교해보면 재발한 경우는  $35.23 \pm 24.26$ , 재발하지 않은 경우는  $24 \pm 8.93$ 으로 통계학적 유의성은 없었다( $p=0.11$ ).

신생미세혈관밀도에서 재발한 경우는  $0.92 \pm 1.70$ , 재발하지 않은 경우는  $0.36 \pm 0.63$ 으로 통계학적 유의성은 없었다( $p=0.257$ ).

## 고 찰

타액선은 이하선, 악하선, 설하선 등의 주타액선과 부비동을 포함한 상부기관식도에 약 600~1000개 정도가 분포하는 것으로 알려진 소타액선으로 나뉜다. 타액선 종양은 전 두경부 종양의 약 3% 정도로 발생빈도는 비교적 낮으나 해부학적으로 복잡하고 다양한 병리학적 형태를 가진다. 종양별 빈도를 보면 양성 종양 중에서는 다형선종이 65~80%로 가장 흔하며, Warthin 종양이 10~18%를 차지하며, 악성 종양에서는 점액표피양암종이 25~50%로 가장 많고, 선양낭성암종이 두 번째로 많으며, 이 외 악성 다형선종, 선암종, 선방세포암종, 미분화세포암종, 편평세포암종 등이 있다. 악성 비율은 타액선의 종류에 따라 다르고 이하선에서는 15~32%, 악하선에서는 40~50%, 설하선 종양에서는 70~90% 정도이다.

악성 종양에서 신생혈관의 생성은 암세포가 확장하고 성장하는데 필수적인 과정으로 암세포의 주위 침습 및 전이에 관여하는 것으로 알려져 있다. 신생혈관형성의 과정은 매우

복잡하며 내피세포와 세포외 간질의 상호작용에 의해 일어난다. 먼저 모혈관의 기저막이 protease 등에 의해 분해되고 이를 통해 내피세포들이 혈관밖으로 빠져나가 원시혈관을 형성하며, 이 내피세포들이 길어지면서, 신생혈관의 내강을 형성하고 기저막성분이 혈관주위에 침착하면서 지지세포가 만들어져 성숙된 모세혈관망이 완성되게 된다. 종양 혈관들은 정상조직의 혈관들과 비교했을 때 혈관벽이 약하여 보다 쉽게 암세포가 침습할 수 있어 림프절 전이의 통로가 될 수 있다<sup>8)</sup>.

1971년 Folkman 등<sup>18)</sup>이 종양의 성장과 신생혈관생성이 밀접하게 연관된다는 것을 처음으로 주창한 이래 신생혈관생성은 암세포, 혈관내피세포, 대식구, 섬유아세포 및 세포외기질 등에서 분비되는 신생혈관생성을 촉진하는 인자와 억제하는 인자에 의해 서로 균형을 유지하고 있으며 암종에서의 궁극적인 신생혈관생성의 양상은 두 인자간의 실질적인 차이에 의해 결정된다고 알려져 있다.

신생혈관 촉진인자로 알려진 것은 vascular endothelial growth factor (VEGF), transforming growth factor- $\alpha$ ,  $\beta$  (TGF- $\alpha$ ,  $\beta$ ), angiogenin, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), fibroblast growth factor (FGF), platelet derived endothelial cell growth factor (PD-ECGF), placental growth factor, hepatocyte growth factor, interleukin-8 (IL-8) 등이고<sup>9)</sup>, 억제인자로 thrombospondin-1 (TSP-1), angiostatin, glioma derived angiogenesis inhibitory factor 등이 있다<sup>10)</sup>. 이 중에서 VEGF는 34~46kD의 당단백으로 혈관내피세포에 선택적으로 작용하며 발현 조절기전은 아직 불명확하나 저산소증이 VEGF의 발현을 증가시킨다고 보고되었으며<sup>11)</sup> 최근의 연구에서는 산소결핍 뿐만 아니라 종양세포나 기질세포에서 분비되는 TGF- $\alpha$ , PDGF, epidermal growth factor 등이 영향을 미친다고 보고되었다<sup>12)</sup>.

VEGF의 신생혈관생성에 관여하는 기전으로는 첫째, 두개의 tyrosine receptor 단백질과 결합하여 직접 혈관내피세포의 세포분열을 촉진시키는 강력한 신생혈관생성인자로 작용하는 것이며<sup>11)</sup>, 둘째, 미세혈관의 투과도를 증가시키고 미세혈관의 투과도가 증가하면 혈장단백이 주변 조직으로 배출되어 세포외 기질을 변화시켜 신생혈관생성을 용이하게 하는 것이다<sup>6)</sup>.

VEGF는 여러 암종에서 과발현이 관찰되었으며, 종양 예후인자로서의 역할에 대한 여러 연구가 보고되었다. Enisma 등<sup>6)</sup>은 두경부 편평세포암에서 VEGF 발현정도가 암의 분화가 나뉠수록 높게 나타났고, Kilicarslan 등<sup>13)</sup>은 갑상선 유두상암종에서 정상 갑상선 조직보다 VEGF의 발현과 미세혈관밀도가 더 높다고 보고하였다.

신생혈관생성은 역동적인 과정이므로 이의 정확하고 실질적인 측정은 사실 매우 어려우며 대부분 미세혈관밀도를 측

정하여 암종에서의 신생혈관생성의 정도를 평가한다. 미세혈관 밀도는 인체 여러 암종에서 암종의 성장, 전이, 재발 및 예후와 연관이 있는 것으로 알려져 있다. Wakui 등<sup>14)</sup>은 전립선암에서 골전이로 된 경우에는 평균미세혈관밀도가 전이가 없는 경우보다 의미있게 높았음을 보고하였고 Bosari 등<sup>15)</sup>은 유방암에서 혈관신생의 정도가 원격전이에 대한 우수한 예측인자가 된다고 보고하였으며 초기 유방암에서는 환자의 생존율을 예측할 수 있는 가장 중요하고도 독립적인 변수로 보고하였다.

본 연구에서는 타액선 종양에서 VEGF 발현 및 미세혈관 밀도에 대해 연구하였으며 이를 타액선암의 병기와 재발과의 관계를 연관하여 분석하였다. 타액선 종양에서 VEGF 발현은 양성종양에 비해 악성종양에서 통계학적으로 유의하게 증가되었다. 또한 악성종양에서의 VEGF 발현정도와 타액선암의 병기 및 T 병기는 관련성이 없었으며 재발여부와의 상관관계는 없었다. Pammer 등<sup>16)</sup>은 양성 및 악성 타액선 종양에서 VEGF가 발현되었으나 두 그룹사이의 의미있는 차이는 보이지 않았고 정상 타액선과 분비된 타액내에서 VEGF가 증가되었고 특히 만성 타액선염이 있는 경우 정상 타액선보다 VEGF 발현율이 증가되어 VEGF가 상처치유 등의 과정에도 중요하다고 주장하였다. Lim 등<sup>17)</sup>의 연구에서는 점액표피양암종에서 조직학적 등급이 높을수록 VEGF 발현율이 높아지며 VEGF 발현율이 높아질수록 더욱 공격적인 임상양상을 보여 예후인자로 가능하다고 주장하였다. Li 등<sup>18)</sup>은 선양성낭성암종에서 VEGF 발현이 증가될수록 종양의 위치와 병기와 관련성이 있으나 국소재발이나 원격전이, 림프절 전이 등과는 관련이 없다고 했다.

본 연구에서 미세혈관밀도가 악성종양에서 유의하게 증가하지는 않았고 병기, 재발과 관련성이 없었다. 또한 단순히 미세혈관밀도를 측정하기 보다는 새로이 증식하여 생성되는 신생미세혈관을 측정하는 것이 더 의미있다고 사료되어 항 CD34항체와 항 Ki67항체를 이용하여 이중면역조직화학법으로 신생미세혈관밀도를 측정하였다. 신생미세혈관밀도 역시 악성종양에서 의미있게 증가하지 않았으며 임상적 의미가 없었다. Doi 등<sup>19)</sup>은 점액표피양암종과 편평세포암종에서 선암종과 선양성암종에 비해 미세혈관밀도가 높다고 보고를 하였다. Yu 등<sup>20)</sup>의 연구에 의하면 선양성암종에서 VEGF 발현율이 증가할수록 미세혈관밀도가 유의하게 증가하였고, 미세혈관밀도는 예후인자로서 의미가 있고 원격전이 및 생존율과 관련성이 있었다. 본 연구결과에서 VEGF와 평균미세혈관밀도 및 신생미세혈관밀도의 관계를 보면 VEGF 발현율이 증가됨에 따라 미세혈관밀도가 증가되는 양상을 보였으나 통계적 유의성은 없었다.

본 연구에서 주목할 만한 결과는 Warthin 종양에서 VEGF 발현 및 미세혈관밀도가 압도적으로 증가한 것이다. 양성종

양 중 빈도가 높은 Warthin 종양과 다형선종을 비교하였을 때 VEGF 발현이 Warthin 종양에서 유의하게 높았다. 양성종양 중 특히 Warthin 종양에 관한 VEGF 발현율에 대한 연구는 많지 않았으나 한 연구에서 정상 타액선 조직과 비교해보았을 때 VEGF를 포함한 여러 성장인자들의 증가됨이 보고되었다.<sup>21)</sup>

Warthin 종양에서 압도적으로 미세혈관밀도가 증가하였기 때문에 이를 제외하여 악성종양과 양성종양에서의 미세혈관 밀도를 분석해보면 악성종양에서 미세혈관밀도가 증가하는 경향을 보이나 통계학적으로 유의하지는 않았다( $p=0.309$ ). Warthin 종양에서 VEGF 발현과 미세혈관밀도가 높은 원인을 밝히기 위한 추가연구가 필요하리라 사료된다.

## 결 론

타액선 양성종양 및 악성종양에서 혈관생성인자인 VEGF의 발현과 미세혈관밀도를 면역조직화학법으로 측정된 결과 평균 및 신생미세혈관밀도는 양성과 악성종양간에 유의한 차이가 없었으나 VEGF의 발현은 양성종양보다 악성종양에서 유의하게 증가되었다. 본 연구의 결과로 미루어 VEGF의 과발현이 타액선 악성종양의 생성에 중요한 인자라 사료된다.

**중심 단어 :** 타액선 종양 · 신생혈관생성 · 혈관내피생성인자.

## References

- 1) Folkman J: *What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent?* *J Natl Cancer Inst.* 1990;82:4-6
- 2) Risau W: *Mechanisms of angiogenesis.* *Nature.* 1997;386:671-674
- 3) Folkman J, Klagsbrun M: *Angiogenic factors.* *Science.* 1987;235:442-447
- 4) Ferrara N, Houck K, Jakeman L, Leung DW: *Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins.* *Endocr Rev.* 1992;13:18-32
- 5) Eisma RJ, Spiro JD, Kreutzer DL: *Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular endothelial cells.* *J Invest Dermatol.* 1995;105:44-50
- 6) Sauter ER, Nesbit M, Watson JC, Klein-Szanto A, Litwin S, Herlyn M: *Vascular endothelial growth factor is a marker of tumor invasion and metastasis in squamous cell carcinomas of the head and neck.* *Clin Cancer Res.* 1999;5:775-782
- 7) Tae K, Kim KT, Lee HS, Park YW, Kim TH, Ahn YH: *Angiogenesis and Ki67 expression in the thyroid tumor.* *Korean J Otolaryngol.* 2004;47:669-674
- 8) Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D: *Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia.* *Nature.* 1989;339:58-61
- 9) Relf M, LeJeune S, Scott PA, et al: *Expression of angiogenic factors vascular endothelial growth factor, acidic and basic fibro-*

- blast growth factor, tumor growth factor beta-1, platelet-derived endothelial cell growth factor, placenta growth factor and pleiotrophin in human primary breast cancer and its relation to angiogenesis. Cancer Res. 1997;57:963-969*
- 10) Van Meir EG, Polverini PJ, Chanzin VR, Huang HJS, Troibole N, Cavenee WK: *Release of an inhibitor of angiogenesis upon induction of wild type p53 expression in glioblastoma. Nat Genet. 1994;8:171-176*
  - 11) Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM: *Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability and angiogenesis. Am J Pathol. 1995;146:1029-1039*
  - 12) Detmar M, Yeo KT, Nagy JA, et al: *Keratinocyte-derived vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) is a potent mitogen for dermal microvascular endothelial cells. J Invest Dermatol. 1995;105:44-50*
  - 13) Kilicarslan AB, Ogun M, Arici C, Pestereli HE, Cakir M, Karpuzoglu G: *Clinical importance of vascular endothelial growth factor for papillary thyroid carcinoma. APMIS. 2003;111:439-443*
  - 14) Wakuis, Furusato M, Itoh T, et al: *Tumor angiogenesis in prostatic carcinoma with and without bone marrow metastasis: a morphometric study. J Pathol. 1992;168:257-262*
  - 15) Bosari S, Lee AK, DeLellis RA, Wiley BD, Heatley GJ, Silverman ML: *Microvessel quantitation and prognosis in invasive breast carcinoma. Hum Pathol. 1992;23:755-761*
  - 16) Pammer J, Weininger W, Mildner M, Burian M, Wojta J, Tschachler E: *Vascular endothelial growth factor is constitutively expressed in normal human salivary glands and is secreted in the saliva of healthy individuals. J Pathol. 1998;186:186-191*
  - 17) Lim JJ, Kang SM, Lee MR, Pai HK, Yoon HJ, Lee JI: *Expression of vascular endothelial growth factor in salivary gland carcinoma and its relation to p53, Ki-67 and prognosis. J Oral Pathol Med. 2003;32:552-561*
  - 18) Li Z, Tang P, Xu Z: *Clinico-pathological significance of microvessel density and vascular endothelial growth factor expression in adenoid cystic carcinoma of salivary glands. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 2001;36:212-214*
  - 19) Doi R, Kuratate I, Okamoto E, Ryoke K, Ito H: *Expression of p53 oncoprotein increases intratumoral microvessel formation in human salivary gland carcinoma. J Oral Pathol Med. 1999;28:259-263*
  - 20) Yu F, Jiang XZ, Chen WT, Zhao YF, Zhou XJ: *Microvessel density and expression of vascular endothelial growth factors in adenoid cystic carcinoma of salivary gland. Shanghai Kou Qiang Yi Xue. 2003;12:443-446*
  - 21) Nakamura Y, Yamamoto M, Sakamoto K, et al: *Growth factors, extracellular matrix components and cell adhesion molecules in Warthin's tumor. J Oral Pathol Med. 2001;30:290-295*