

자궁목암종에서 Hypoxia Inducible Factor-1 α 의 발현과 Cyclin A1, Cyclin B1 발현 및 임상병리학적 인자들과의 연관성

표주연^{1,4} · 조재호² · 김현기¹ · 박종필¹
김영태³ · 조남훈^{1,4}

¹연세대학교 의과대학 병리학교실
²방사선종양학교실, ³산부인과학교실
⁴BK 21 연세 의과학 사업단

The Expression of Hypoxia Inducible Factor-1 α and Its Correlation with the Expressions of Cyclin A1 and Cyclin B1 and the Clinicopathologic Factors of Uterine Cervical Carcinoma

Ju Yeon Pyo^{1,4}, Jae Ho Cho², Hyunki Kim¹, Jong-pil Park¹, Young Tae Kim³
and Nam Hoon Cho^{1,4}

Departments of ¹Pathology, ²Radiation Oncology, ³Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Yonsei University, and ⁴Brain Korea 21 Project for Medical Science, Seoul, Korea

Background : Hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) is a transcription factor for various target genes that are involved in adapting cells to hypoxia. It promotes cell proliferation and survival via modulation of such cell cycle regulators such as cyclin A1 and cyclin B1 in response to hypoxia. This is associated with local failure of radiotherapy, which renders a poor prognosis for cervical carcinoma. **Methods :** Using the tissue histologic sections and a tissue microarray of the archived biopsy and surgical specimens of uterine cervical carcinoma from 57 patients who were treated with radiation therapy alone, we performed immunohistochemical staining for HIF-1 α and cyclin A1 and B1 to evaluate the correlations between the expressions of these proteins in tumors and the clinicopathologic parameters associated with the prognosis. **Results :** The large tumor cell nests and invasive front margins of the tumors showed comparatively intense immunoreactivity of HIF-1 α . There was no significant correlation between the HIF-1 α , cyclin A1 and cyclin B1 expressions and the clinicopathologic factors. **Conclusions :** The HIF-1 α expression showed marked intra-tumoral heterogeneity. The HIF-1 α expression is neither a powerful predictor of resistance to radiotherapy nor is it a poor prognostic marker in cervical carcinoma patients who are treated with radiotherapy. The expressions of cyclin A1 and cyclin B1 are neither independently associated with the response of radiation therapy nor are they associated with the prognostic parameters of uterine cervical carcinoma.

Key Words : Cervix cancer; Radiotherapy; Hypoxia inducible factor 1, alpha subunit; Cyclin A; Cyclin B

접 수 : 2008년 7월 8일
게재승인 : 2008년 10월 28일

책임저자 : 조 남 훈
우 120-752 서울시 서대문구 신촌동 134
연세대학교 의과대학 병리학교실
전화: 02-2228-2643
Fax: 02-2227-7939
E-mail: cho1988@yuhs.ac

자궁목암종은 최근 그 상대적 빈도가 감소하는 추세를 보이지만 한국 여성에서 발생하는 전체 악성 종양 중 5위를 차지하고 있다.¹ 2기 말 이상의 진행된 병기의 자궁목암종은 근치적 수술이 불가능하거나 수술적 치료 후 높은 국소 재발률을 보이기 때문에 방사선 치료가 주된 치료 방법으로 사용된다.

고형성 종양의 종양 내 저산소 상태는 방사선 치료에 대한 저항성과 치료 후의 나쁜 예후와 직접적인 연관이 있다.² 자궁목암종과 두경부암종에서의 방사선 치료의 효과 및 예후와 관련이 있는 여러 요인들 중 특히 종양 내 저산소 상태는 종양의 방사선 치료에 대한 저항성을 증가시키고, 침윤성과 전이력을 높이기 때문에 종양 내 저산소 상태는 암종의 나쁜 생존율과 밀접한

연관성이 있다는 것이다.²⁻⁷

Hypoxia inducible factor 1 (HIF-1)은 조직의 저산소 상태에 대한 적응 반응에 중요한 전사 인자의 하나로,⁸ 과발현이 여러 암종의 방사선 치료에 대한 저항성을 높여 생존율을 낮춘다.⁹ HIF-1은 세포 내 저산소 상태에 의하여 과발현되어 혈관신생(angiogenesis), 당 전달(glucose transport) 및 적혈구생성(erythropoiesis)에 필요한 주요 단백질을 부호화하는 표적 유전자의 발현을 유도한다. HIF-1은 산소 농도에 예민하게 반응하는 α 소단위와 전위(translocation)에 대해서 예민하게 반응하는 β 소단위로 구성된 이질이합체(heterodimer)이다. HIF-1 α 는 산소 농도에 예민하게 반응하여 조직의 정상적인 산소 농도하에서는 짧은

시간 내에 분해되지만 저산소 상태에서는 안정화되고 그 발현이 증가한다.¹⁰ 따라서, 종양 내 저산소 상태를 반영하는 HIF-1 α 의 과발현을 보이는 암종은 방사선 치료에 저항성을 보일 가능성이 크고 결국 나쁜 예후를 보일 것이라는 예측을 할 수 있다. 최근 연구들에 따르면 HIF-1 α 를 과발현하고 있는 두경부암 및 자궁목암종은 방사선치료에 대한 반응이 나쁘다고 보고하였다.^{9,11-13}

세포주기는 세포 내 cyclin의 양과 활성도에 의하여 조절된다. Cyclin은 cyclin-dependent kinase (CDK)와 복합체를 형성하여 특정 세포 주기를 조절하는 인자이다. 이들 중 S기와 관련된 cyclin A1과 G₂/M기와 관련된 cyclin B1의 과발현이 자궁목암종의 나쁜 예후와 연관성이 있다고 보고되었다.¹⁴⁻¹⁶ 세포 내 저산소 상태가 세포 주기에 영향을 미치는 것은 p53 경로를 통한 세포예정사 과정의 조절이나 G₁/S기의 이행점(checkpoint)을 제어함으로써 조절된다고 알려져 있다.¹⁷⁻²⁰

HIF-1 α 의 과발현과 자궁목암종에서의 생존율 및 방사선 치료에 대한 반응성을 연구한 보고들이 있으나,^{6,9,12,18,21-24} 자궁목암종에서의 HIF-1 α 발현과 세포 주기 조절 인자 발현의 상관 관계에 대한 연구는 아직 보고된 바 없다. 본 연구에서는 자궁목암종의 방사선 치료에 대한 반응성을 평가하는 척도로써의 HIF-1 α 의 발현의 유용성과, HIF-1 α 의 발현과 세포 주기 조절 인자인 cyclin A1 및 cyclin B1 발현의 상관 관계를 알아보고자 한다. 아울러 cyclin A1, cyclin B1 및 HIF-1 α 의 발현과 자궁목암종의 방사선 치료와 관련한 예후 인자²⁵ 중 병기, 종양의 크기와 림프선의 전이 여부 및 다른 임상병리학적 인자와의 상관 관계를 확인하여 치료 반응성 및 예후 예측의 지표로서 가치가 있는지 살펴보고자 한다.

재료와 방법

연구 재료

1994년 1월부터 2005년 12월까지 자궁목 생검 결과 자궁목암종으로 진단받고 방사선 치료를 받은 743명의 환자들 중 병리학적 검사가 가능한 57예를 대상으로 하였다. 환자의 임상기록지를 참고하여 진단 당시의 나이, 종양의 조직학적 유형, 모양 및 크기, 안쪽자궁목으로의 침윤, 림프절 전이 여부, FIGO 병기, 추적 관찰 기간, 재발 혹은 사망 여부, 동반된 합병증의 유무를 조사하였다.

면역조직화학 염색 및 결과 판정

10% 중성 포르말린에 12시간 이상 고정 후 일련의 과정을 거쳐 파라핀에 포매하여 보관된 조직을 이용하여 57예 중 42예는 종양 조직에서 조직 심을 취하여 tissue microarray (TMA) 블록으로 제작하였고 15예는 대표적인 파라핀 블록을 사용하여

면역조직화학염색을 시행하였다. 각 블록을 4 μ m의 두께로 박절하여 오븐에서 파라핀을 녹인 후 자일렌으로 파라핀을 완전히 제거하였다. 에틸 알코올로 단계적으로 함수하였고, 조직 절편을 0.3% 과산화수소수에 10분간 담근 후 pH 6.0의 구연산 완충액에 담가 극 초단파에 15분간 처리하여 실온에서 식혔다. 일차 항체인 항 HIF-1 α (1:100, ab8366; Abcam, Cambridge, UK), cyclin A1 (1:100, Santa Cruz, CA, USA), cyclin B1 (1:100, Santa Cruz, CA, USA) 항체를 상온에서 30분간 반응시킨 후, 냉장고에서 12시간 배양하였다. ENVION kit (Dako-Cytomation, Glostrup, Denmark)를 이용한 EnVision 항체 복합체 방법으로 면역과산화효소 염색을 시행하였다. 3,3-diaminobenzidine tetrachloride chromogen (DAB)으로 발색한 후 헤마톡실린으로 대조염색하였다.

HIF-1 α 는 종양 세포의 핵에 갈색으로 염색되는 경우를 양성으로 판정하여, 염색의 정도에 따라서 전체 종양의 10% 미만에서 양성 반응을 나타내는 경우를 1+, 10% 이상 50% 미만에서 양성 반응을 나타내는 경우는 2+, 50% 이상에서 양성 반응을 나타내는 경우는 3+로 판독하였다.

Cyclin A1과 cyclin B1은 핵 또는 세포질에 염색되는 경우를 양성으로 판정하고, 종양세포의 밀도가 높은 3-5개의 고배율($\times 400$) 시야에서 500개의 종양 세포 중에서 양성인 세포의 수를 세어 백분율을 구하여 30% 미만까지를 음성군으로 분류하였고, 30% 이상에서 염색된 경우를 양성군으로 분류하였다.

통계학적 분석

SPSS 프로그램(SPSS Inc, Chicago, IL, USA, ver.13.0)을 이용하여 HIF-1 α 의 발현과 임상적 인자인 진단 당시 연령, 종양의 조직학적 유형, 모양, 크기, 병기, 안쪽자궁목으로의 침윤, 합병증 유무, 방사선 치료의 반응 사이의 연관성을 chi-square 검정 또는 Fisher's exact 검정으로 분석하였다. HIF-1 α 의 발현 및 임상병리학적 인자들과 생존율과의 관계는 Kaplan-Meier method의 log-rank 검정으로 단변량 분석하였고, Multivariate Cox proportional hazard model을 이용하여 다변량 분석하였다. 생존 기간은 진단 당시 날짜로부터 자궁목암종으로 인한 사망일까지를 개월로 계산하였다. p값이 0.05 이하인 경우에 한하여 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

임상 소견

환자의 연령 분포는 31세에서 79세까지였으며, 평균 나이는 58.7세였다. 종양의 크기는 1 cm에서 10 cm로 다양했으며 4 cm 이상은 20예(35.1%)였다. 57예 중 34예(59.6%)는 진단 당시

FIGO stage가 2기 이상이었으며, 4예(7%)에서 골반임파선전이 있었다. 추적 관찰 기간은 14개월에서 108개월이며 평균 추적 관찰 기간은 51.4개월이었다. 방사선 치료 후 55예(96.5%)에서는 완전 관해되었고, 2예(3.5%)에서 부분 관해되었다. 추적 관찰 기간 중 5예(8.8%)에서 재발하였으며, 그 중 3예(5.3%)가 자궁목 및 질에서의 국소 재발이었다. 합병증이 생긴 경우는 모두 18예였다.

조직학적 소견

조직학적 유형은 51예가 편평세포암종이었고, 6예는 샘암종

이었다. 50예에서 종양의 성장 양식은 침윤형이었고 7예는 돌출형이었다. 편평세포암종 51예 중 44예는 대세포형이었으며, 이 중 14예에서 각화현상을 보였다.

면역조직화학 염색 결과

HIF-1 α 는 종양 세포의 3%에서 96%까지 발현되었고, 평균 발현율은 $42.8 \pm 35.7\%$ 였다. HIF-1 α 는 종양 세포뿐만 아니라 혈관내피 세포에서도 핵에 염색되었으며, 기질의 혈관에서는 위치에 따라서 다양하게 나타났으나 혈관의 직경이 작을수록 더 강하게 염색되는 양상을 보였다. 바깥자궁목의 정상 편평상피

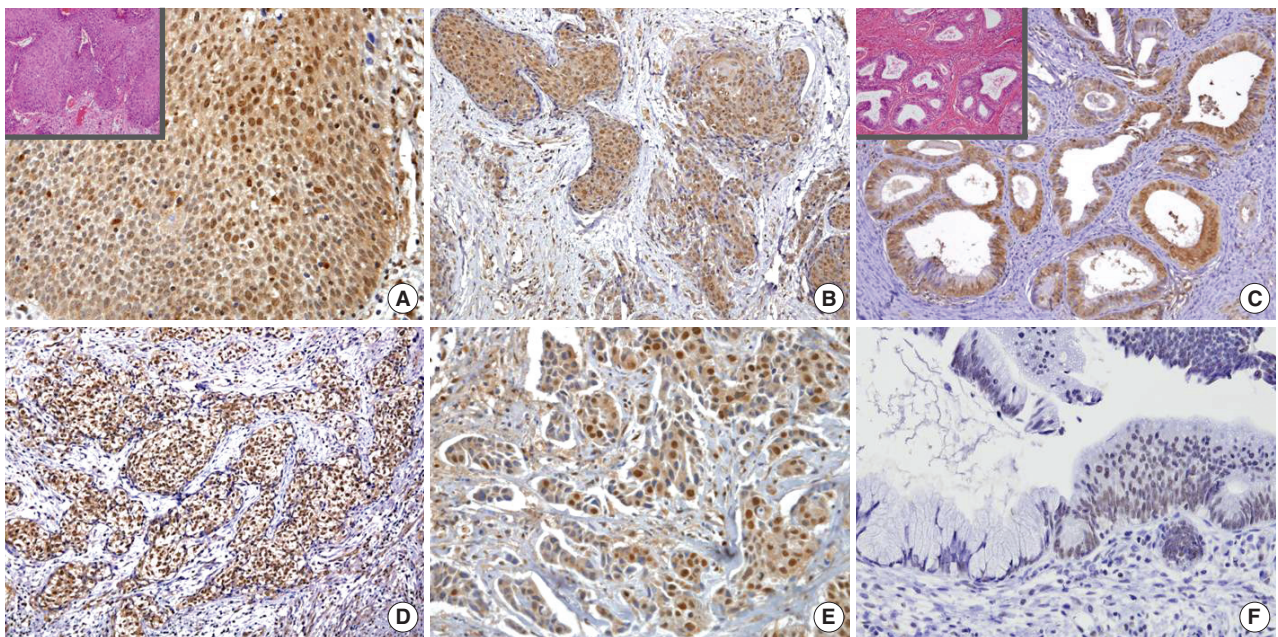


Fig. 1. Immunohistochemical staining for HIF-1 α in cervical carcinoma shows variable nuclear expression in tumor cells and blood vessels (A-C). The invasive front margin (D) and large tumor cell nest (E) show slightly prominent nuclear expression, compared with around tumor cells. The endocervical glands do not express HIF-1 α (F).

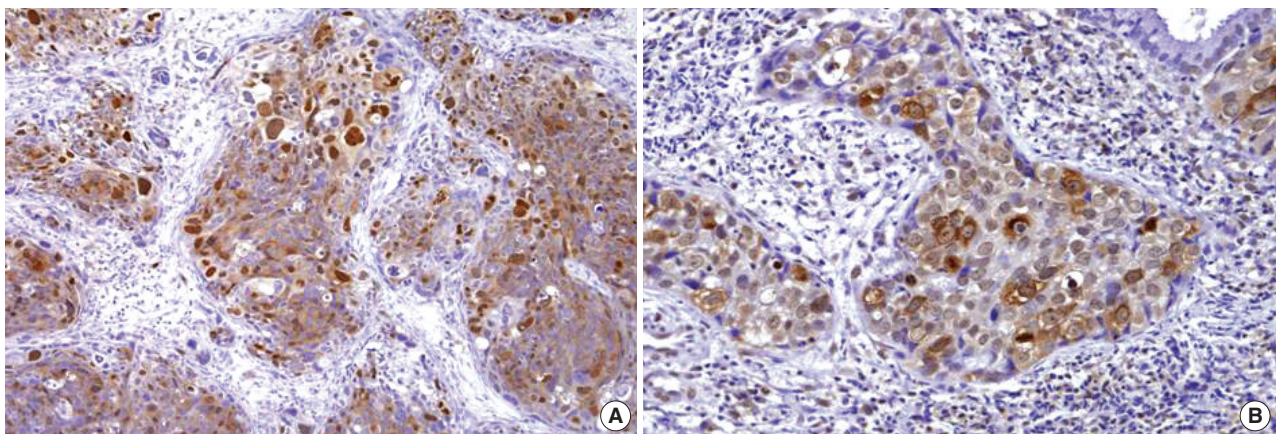


Fig. 2. Immunohistochemical staining for cyclin A1 (A) and cyclin B1 (B) shows nuclear and cytoplasmic expression in cervical carcinoma.

세포층에서는 parabasal cell과 intermediate cell에서만 염색되었고, 암중에 인접해 있는 자궁목상피내증양(cervical intraepithelial neoplasia) 및 상피내암종의 경우 대부분의 종양 세포가

Table 1. Relationship between HIF-1 α expression and clinicopathologic factors in uterine cervical carcinoma

Variables	Patients number	HIF-1 α expression				p-value
		-	1+	2+	3+	
Total	57	12	5	12	28	
Histologic type						0.970
Squamous cell carcinoma	51	10	5	12	24	
Adenocarcinoma	6	2	0	0	4	
Tumor shape						0.049
Exophytic	7	4	0	1	2	
Endophytic	50	8	5	11	26	
Tumor size						0.192
<4 cm	37	5	4	9	19	
≥ 4 cm	20	7	1	3	9	
Endocervical extension						0.079
No	51	9	5	10	27	
Yes	6	3	0	2	1	
FIGO stage						0.449
I-II	54	11	5	10	28	
III-IV	3	1	0	2	0	
Age						0.228
<60 years	26	4	1	7	14	
≥ 60 years	31	8	4	5	14	
Complication						0.083
No	39	11	3	8	17	
Yes	18	1	2	4	11	
Response to radiotherapy						0.240
CR	55	11	5	11	28	
PR	2	1	0	1	0	

-, negative; 1+, 1-9%; 2+, 10-49%; 3+, 50-100% of tumor cells; CR, complete remission; PR, partial remission.

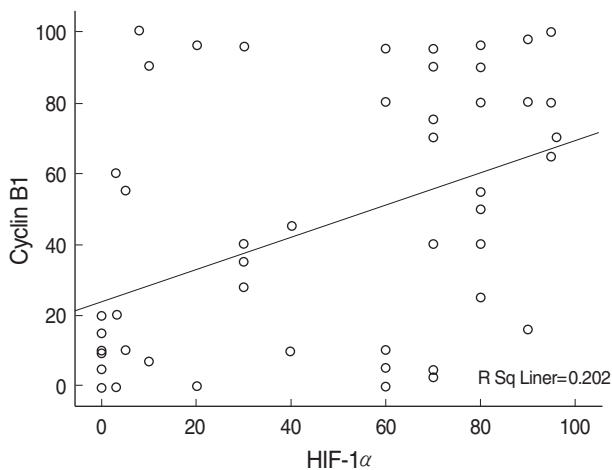


Fig. 3. Scatter diagram of HIF-1 α and cyclin B1 reveals positive linear correlation (correlation coefficient 0.449, $p < 0.05$).

강하게 염색되었다(Fig. 1A, B). 자궁목의 샘암종에서도 강하게 염색되었다(Fig. 1C). 종양 세포의 괴사가 동반된 경우 괴사된 종양 세포에는 염색되지 않았으나 괴사부위 주변의 종양 세

Table 2. Relationship between cyclin A1, cyclin B1 expression and clinicopathologic factors in uterine cervical carcinoma

Variables	Patients number	cyclin A1			cyclin B1		
		-	+	p-value	-	+	p-value
Total	57	22	35		27	30	
Histologic type				0.548			0.321
Squamous cell carcinoma	51	19	32		23	28	
Adenocarcinoma	6	3	3		4	2	
Tumor shape				0.564			0.584
Exophytic	7	2	5		4	3	
Endophytic	50	20	30		23	27	
Tumor size				0.874			0.772
<4 cm	37	14	23		17	20	
≥ 4 cm	20	8	12		10	10	
Endocervical extension				0.781			0.872
No	51	20	31		24	27	
Yes	6	2	4		3	3	
FIGO stage				0.671			0.460
I-II	54	21	33		25	29	
III-IV	3	1	2		2	1	
Age				0.601			0.461
<60 years	26	10	16		13	13	
≥ 60 years	31	12	19		14	17	
Complication				0.976			0.789
No	39	15	24		18	21	
Yes	18	7	11		9	9	
Response to radiotherapy				0.627			0.727
CR	55	21	34		26	29	
PR	2	1	1		1	1	

-, 0-29% of tumor cells, +, $\geq 30\%$ of tumor cells; CR, complete remission; PR, partial remission.

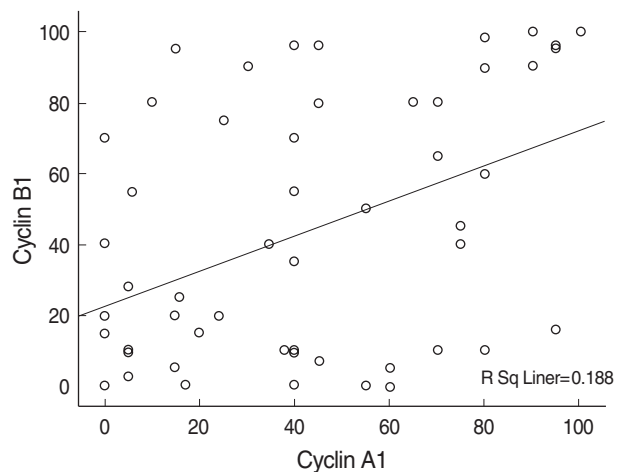


Fig. 4. Scatter diagram of cyclin A1 and cyclin B1 reveals positive linear correlation (correlation coefficient 0.48, $p < 0.05$).

포에서 약양성을 보였다. 침윤 방향에 따른 위치 및 종양 세포의 군집의 크기에 따라서는 다양한 염색 양상을 보였는데 침윤성 성장 양상의 종양의 침윤 부위는 주변에 비해 강하게 염색되었고(Fig. 1D), 종양 세포의 군집의 크기가 클수록 발현의 정도가 증가하였다(Fig. 1E). 정상 자궁목샘의 세포는 염색되지 않았으나 자궁목샘의 비증양성 증식이 있는 부위에서는 예비세포(reserve cell)에만 염색되었다(Fig. 1F).

Cyclin A1은 핵과 세포질에서 발현되었으며 5%에서 100%까지 다양하였으며, 평균 발현율은 $41.8 \pm 31.8\%$ 였다. Cyclin B1도 cyclin A1과 유사하게 3%에서 100%까지 발현되었으며, 평균은 $42.9 \pm 6.3\%$ 였다(Fig. 2).

HIF-1 α , cyclin A1과 cyclin B1 각 인자들 간에 양의 상관관계를 보였는데 HIF-1 α 와 cyclin B1은 0.449의 상관 계수를 보였고(Fig. 3), cyclin A1과 cyclin B1은 0.434의 상관 계수를 보였다(Fig. 4).

Table 3. Univariate survival analysis of clinical factors and immunohistochemical markers for uterine cervical carcinoma using the Kaplan-Meier method with a log-rank test

Variables	p-value
Clinical factors	
Age (<60 vs ≥ 60 years)	0.215
Histologic type (squamous cell carcinoma vs adenocarcinoma)	0.461
Tumor shape (exophytic vs endophytic)	0.472
Tumor size (<4 cm vs ≥ 4 cm)	0.026
Endocervical extension (no vs yes)	0.022
FIGO stage (<IIIA vs \geq IIIA)	0.083
Pelvic node metastasis (no vs yes)	0.194
Complication (no vs yes)	0.094
Response to radiotherapy (CR vs PR)	0.009
Immunohistochemical markers	
HIF-1 α (0 vs <10% vs 10-50% vs $\geq 50\%$)	0.422
Cyclin A1 (<30% vs $\geq 30\%$)	0.310
Cyclin B1 (<30% vs $\geq 30\%$)	0.732

CR, complete remission; PR, partial remission.

자궁목암종의 임상적, 병리학적 인자와 면역조직화학 염색 결과 비교

HIF-1 α 는 종양의 성장 양상이 돌출형인 경우보다 침윤형인 경우에서 더 많이 발현되었다($p=0.049$). 그러나 다른 임상 및 병리학적 인자들과는 통계적으로 유의한 관련성이 없었으며(Table 1), 종양의 cyclin A1 및 cyclin B1의 발현 정도와도 통계적으로 유의한 관련성은 없었다(Table 2).

자궁목암종 환자의 생존에 영향을 미치는 예후 인자 분석

Kaplan-Meier method의 log-rank 검정으로 단변량 분석을 한 결과, 종양 세포의 크기가 4 cm 이상인 경우($p=0.026$)와 골반임파선전이가 있는 경우($p=0.022$) 및 방사선 치료에 부분 관해를 보이는 경우($p=0.009$)에 생존율이 낮았다(Fig. 5). Cyclin

Table 4. Cox regression multivariate survival analysis of clinical factors and immunohistochemical markers in uterine cervical carcinoma

Disease-free survival	Significance (P)	95% CI	RR
HIF-1 α (0 vs <10% vs 10-50% vs $\geq 50\%$)	0.425		
Cyclin A1 (<30% vs $\geq 30\%$)	0.333		
Cyclin B1 (<30% vs $\geq 30\%$)	0.770		
Age (<60 vs ≥ 60 years)	0.283		
Histologic type (squamous cell carcinoma vs adenocarcinoma)	0.545		
Tumor shape (exophytic vs endophytic)	0.638		
Tumor size (<4 cm vs ≥ 4 cm)	0.108		
Endocervical extension (no vs yes)	0.045	1.037-37.256	6.217
FIGO stage (<IIIA vs \geq IIIA)	0.483		
Pelvic node metastasis (no vs yes)	0.499		
Complication (no vs yes)	0.082		

CI, confidence interval; RR, relative risk.

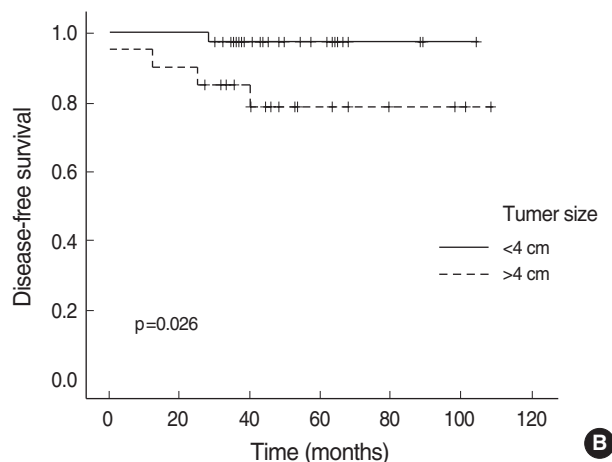
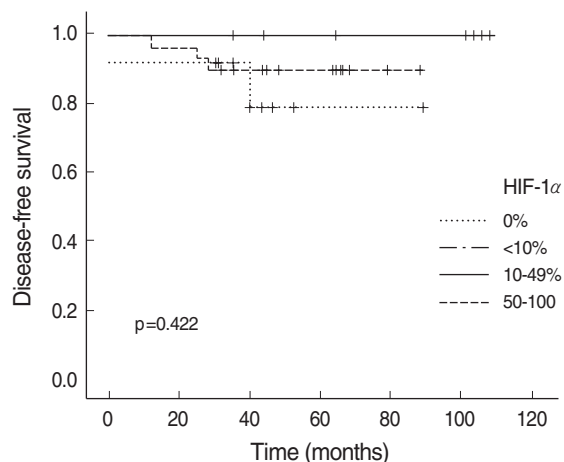


Fig. 5. Kaplan-Meier survival curve reveals no statistically significant difference between the prognosis of uterine cervical carcinoma and expression of HIF-1 α (A, $p=0.422$). The survival curve is statistically significant (B, $p=0.026$) according to tumor size (<4 cm vs ≥ 4 cm).

A1 및 cyclin B1은 발현이 음성이거나 발현율이 30% 미만인 경우에 생존율이 낮은 경향을 보였지만 통계적으로 유의하지는 않았다(Table 3).

Multivariate Cox proportional hazards model을 이용하여 다변량 분석을 한 결과, 임상적 인자로는 안쪽자궁목으로 침윤이 있는 경우에만 통계적으로 유의한 차이가 있었고, HIF-1 α , cyclin A1 및 cyclin B1의 발현 정도에 따른 생존율의 차이는 유의성이 없었다.

고 찰

소수의 연구에 따르면 종양 내 저산소 상태와 관련된 HIF-1 α 의 발현 정도가 국소적으로 진행된 자궁목암종의 예후에 영향을 미친다고 보고된 바 있다.⁹ 그러나 자궁목암종을 포함한 거의 대부분의 고형성 종양에서 HIF-1 α 의 발현 양상은 다양하고 이질적이다.¹³ Talks 등²⁴은 면역화학염색, Western blot, *in situ hybridization*을 이용하여 여러 종류의 종양과 정상 조직에서의 HIF-1 α 의 발현을 분석한 결과 다른 연구에서처럼 종양 부위에서의 HIF-1 α 의 발현 정도와 강도는 다양하다고 보고하였고 정상 조직에서의 발현이 종양에 비해 현저히 감소한다는 점에서 HIF-1 α 의 종양의 진단적 또는 치료적 지표로서의 유의성을 제시한 바 있다. 본 연구에서는 면역조직화학염색에서 HIF-1 α 가 바깥자궁목의 정상 중층평상피와 안쪽자궁목 원주상피에는 염색이 되지 않았지만 인유두종바이러스 감염 및 전암성 병변에서는 염색되었으며, 암종 조직에서는 다양한 염색 양상을 보였다. 종양 내 분포하는 혈관의 직경이 작을 수록 종양 세포의 군집이 클 수록 강하게 발현되는 점, 괴사부위 주변의 종양 세포에서 약양성을 보인 점은 HIF-1 α 가 종양 내 저산소 상태를 반영하는 결과로 판단하였다. 침윤성 성장양상을 보이는 종양의 침윤 부위가 좀 더 강하게 염색되는 점도 종양 세포의 침윤 과정에서 발생할 수 있는 저산소 상태를 반영하는 것으로 판단하였다. 서 등²⁶에 따르면 자궁목의 편평세포암종에서 HIF-1 α 의 발현은 vascular endothelial growth factor (VEGF)의 발현과 유의한 상관 관계를 보이며 VEGF의 발현은 침윤성 종양 세포와 주변의 간질 세포 및 염증 세포에서 뚜렷하였고 따라서 HIF-1 α 의 발현은 VEGF의 발현 증가를 통하여 종양 내 맥관 형성에도 부분적으로 기여할 것으로 판단된다고 저자들은 보고하였다. 본 연구에서도 HIF-1 α 의 발현이 침윤성 성장을 하는 종양 세포에서 더 많이 발현되는 경향을 보였다.

그러나, 암종에서의 HIF-1 α 의 발현 정도는 연구자들마다 다소 차이를 보였다. 또한 HIF-1 α 의 발현과 암종의 예후 및 치료에 대한 반응과의 상관 관계도 저자들마다 차이를 보였다. Haugland 등²⁰은 종양 내 저산소 상태가 심할 수록 종양세포의 HIF-1 α 발현이 증가하지만 예후 인자로서의 통계적인 유의성은 없다고 보고하였다. 서 등²⁶의 연구에서는 자궁목 편평세포암종 70예 중 19예(27.1%)만 HIF-1 α 를 발현하였고 이의 발현과 환자

의 연령, FIGO 병기, 골반림프절 전이, 미세혈관 수와 유의한 상관 관계는 없다고 하였다. 이에 반하여 Bachtary²¹ 등은 HIF-1 α 의 과발현이 방사선 치료에 대한 반응성과 생존율에 나쁜 영향을 미치는 예후 인자라고 보고하였다. 병기 IB-IVA의 78예를 대상으로 한 Burri 등¹² 연구에 의하면 암종의 HIF-1 α 가 강하게 발현될 수록 나쁜 예후를 보인다고($p=0.01$, log-rank) 보고하였다. 이 등²⁷의 연구에서도 57예의 자궁목 편평세포암종 중 46예(81.7%)가 HIF-1 α 를 발현하였고, HIF-1 α 의 과발현은 높은 병기와 통계적으로 유의한 상관관계가 있었으며 방사선 치료 후 불완전 관해를 보이는 확률 및 사망률이 의미있게 높아 예후 인자로서의 의미를 보고하였다. 그러나, Mayer 등²³은 38예의 자궁목편평세포암종을 대상으로 한 연구에서 암종의 HIF-1 α 의 발현이 암종 내의 실제 산소 농도와는 상관이 없음을 밝힘으로써 HIF-1 α 의 발현은 종양의 저산소 상태를 반영하는 지표로서의 의미가 없을 뿐만 아니라, 예후 인자로서의 의미도 없다고 주장하였다. 본 연구에서도 HIF-1 α 의 발현과 방사선 치료 후 관해 정도 또는 생존율과의 연관성은 통계적으로 유의하지 않았다.

이렇게 여러 연구의 결과들이 서로 다른 것에 대해 Haugland 등²⁰은 HIF-1 α 가 조직 내 산소 상태의 변화에 빨리 반응하는 특성상 생검된 검체의 고정 시간이나 고정 용액의 차이에 따라 HIF-1 α 의 발현이 달라질 수 있다고 지적한 바 있다. 그리고 HIF-1 α 의 산소 농도에 따른 변화의 민감한 정도가 환자마다 다를 수 있다는 점, 한 종양에서도 부위마다 염색의 정도와 강도가 다른 점, 이에 대한 염색의 판정의 차이, 환자 군의 자궁목암종의 조직학적 유형의 분포가 연구 표본마다 다른 점 또한 이러한 다양한 결과의 원인으로 생각된다.

세포 주기 관련 인자로서 자궁목암종에서 나쁜 예후와 관련 있다고 알려진 cyclin A1과 cyclin B1은 본 연구에서 HIF-1 α 와 마찬가지로 정상 조직에서도 발현하였으며 종양 세포에서도 부위마다 다양한 양상으로 발현하였다. 그리고 기대했던 바와 달리 염색 결과와 생존율과는 연관성이 없다는 결과를 얻었다. HIF-1 α 와 cyclin B1의 발현이 서로 연관성을 보인 것은(상관계수=0.446) 종양의 증식이 활발한 부위일 수록 저산소 상태일 가능성이 높고 따라서 HIF-1 α 가 과발현될 것이라는 점을 유추할 수 있지만, HIF-1 α 가 세포 주기를 지연시키는 주요한 조절 인자일 것이라는 보고¹⁶도 있어 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결론적으로 HIF-1 α 의 발현 정도는 자궁목암종의 침윤성 병변 내에 다양하게 발현함으로써 종양의 저산소 상태를 반영하는 내적 인자로서의 기능을 반영한다고 볼 수 있지만 아직은 방사선 치료에 대한 반응이나 예후를 예측하는 측도로 단정지을 수 없을 것으로 판단된다.

참고문헌

1. Shin HR, Jung KW, Won YJ, Park JG. 2002 Annual report of the

- Korea Central Cancer Registry: based on registered data from 139 Hospitals. *Cancer Res Treat* 2004; 36: 103-14.
2. Nordsmark M, Overgaard M, Overgaard J. Pretreatment oxygenation predicts radiation response in advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Radiother Oncol* 1996; 41: 31-9.
3. Gatenby RA, Kessler HB, Rosenblum JS, *et al.* Oxygen distribution in squamous cell carcinoma metastases and its relationship to outcome of radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1988; 14: 831-8.
4. Höckel M, Vorndran B, Schlenger K, Baussmann E, Knapstein PG. Tumor oxygenation: a new predictive parameter in locally advanced cancer of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 1993; 51: 141-9.
5. Hockel M, Schlenger K, Aral B, Mitze M, Schaffer U, Vaupel P. Association between tumor hypoxia and malignant progression in advanced cancer of the uterine cervix. *Cancer Res* 1996; 56: 4509-15.
6. Ryan HE, Poloni M, McNulty W, *et al.* Hypoxia-inducible factor-1 alpha is a positive factor in solid tumor growth. *Cancer Res* 2000; 60: 4010-5.
7. Vordermark D, Brown JM. Endogenous markers of tumor hypoxia predictors of clinical radiation resistance? *Strahlenther Onkol* 2003; 179: 801-11.
8. Vaupel P. Tumor microenvironmental physiology and its implications for radiation oncology. *Semin Radiat Oncol* 2004; 14: 198-206.
9. Birner P, Schindl M, Obermair A, Plank C, Breitenacker G, Oberhuber G. Overexpression of hypoxia inducible factor 1 alpha is a marker for an unfavorable prognosis in early-stage invasive cervical cancer. *Cancer Res* 2000; 60: 4693-6.
10. Semenza GL. Regulation of mammalian O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1999; 15: 551-78.
11. Rofstad EK, Sundfjord K, Lyng H, Tropé CG. Hypoxia-induced treatment failure in advanced squamous cell carcinoma of the uterine cervix is primarily due to hypoxia-induced radiation resistance rather than hypoxia-induced metastasis. *Br J Cancer* 2000; 83: 354-9.
12. Burri P, Djonov V, Aebersold DM, *et al.* Significant correlation of hypoxia-inducible factor-1 alpha with treatment outcome in cervical cancer treated with radical radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 56: 494-501.
13. Mabjeesh NJ, Amir S. Hypoxia-inducible factor (HIF) in human tumorigenesis. *Histol Histopathol* 2007; 22: 559-72.
14. Van de Putte G, Kristensen GB, Lie AK, Baekelandt M, Holm R. Cyclins and proliferation markers in early squamous cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 2004; 92: 40-6.
15. Shiohara S, Shiozawa T, Miyamoto T, *et al.* Expression of cyclins, p53, and ki-67 in cervical squamous cell carcinomas: overexpression of cyclin A is a poor prognostic factor in stage Ib and II disease. *Virchows Arch* 2005; 446: 626-33.
16. Schmaltz C, Hardenbergh PH, Wells A, Fisher DE. Regulation of proliferation survival decisions during tumor cell hypoxia. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 2845-54.
17. Gardner LB, Li Q, Park MS, Flanagan WM, Semenza GL, Dang CV. Hypoxia inhibits G₁/S transition through regulation of p27 expression. *J Biol Chem* 2001; 276: 7919-26.
18. Goda N, Ryan HE, Khadivi B, McNulty W, Rickert RC, Johnson RS. Hypoxia-inducible factor 1 alpha is essential for cell cycle arrest during hypoxia. *Mol cell Biol* 2003; 23: 359-69.
19. Cerciello F, Hofstetter B, Fatah SA, *et al.* G₂/M cell cycle checkpoint is functional in cervical cancer patients after initiation of external beam radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 62: 1390-8.
20. Haugland HK, Vukovic V, Pintilie M, *et al.* Expression of hypoxia inducible factor-1 alpha in cervical carcinomas: correlation with tumor oxygenation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002; 53: 854-61.
21. Bachtary B, Schindl M, Pötter R, *et al.* Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 alpha indicates diminished response to radiotherapy and unfavorable prognosis in patients receiving radical radiotherapy for cervical cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 2234-40.
22. Hutchison GJ, Valentine HR, Lancaster JA, *et al.* Hypoxia-inducible factor 1 alpha expression as an intrinsic marker of hypoxia: correlation with tumor oxygen, pimonidazole measurements, and outcome in locally advanced carcinoma of the cervix. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 8405-12.
23. Mayer A, Wree A, Höckel M, Leo C, Pilch H, Vaupel P. Lack of correlation between expression of HIF-1 alpha protein and oxygenation status in identical tissue areas of squamous cell carcinomas of uterine cervix. *Cancer Res* 2004; 64: 5876-81.
24. Talks KL, Turley H, Gatter KC, *et al.* The expression and distribution of the hypoxia-inducible factors HIF-1 alpha and HIF-2 alpha in normal human tissues, cancers, and tumor-associated macrophages. *Am J Pathol* 2000; 157: 411-21.
25. Shin KH, Ha SW, Yoo KY. Analysis of pretreatment prognostic factors in stage IIB carcinoma of the uterine cervix. *J Korean Soc Ther Radiol* 1992; 10: 227-36.
26. Suh DS, Lee CH, Suh KS, Yoon MS. Expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha protein in stages I and II squamous cell carcinomas of the uterine cervix: relationship with p53 protein and VEGF expression. *Korean J Pathol* 2003; 37: 79-86.
27. Lee KJ, Cho MS, Kim SC, *et al.* Expression of hypoxia inducible factor-1 alpha in invasive squamous cell carcinoma of uterine cervix treated by radiotherapy. *Korean J Pathol* 2005; 39: 307-12.