

간세포암에서 CD34 발현의 임상적 의의에 관한 연구

권기범, 최병주, 편준철, 윤병철, 이상욱, 한병훈

고신대학교 의학부 내과학교실

The Study for Clinical Significance of CD34 Expression in Hepatocellular Carcinoma

Ki Bum Kwon, Byung Joo Choe, Jun Chul Pyun,
Byung Chul Youn, Sang Uk Lee, Byung Hoon Han

Department of Internal Medicine, Kosin University College of Medicine, Pusan, Korea

Abstract

Background Angiogenesis seems to be essential for hepatocellular carcinoma progression. It could be evaluated by observing the CD34 expression. In the present study, we studied to define whether or not angiogenesis has the correlation with clinicopathological characteristics of hepatocellular carcinoma. **Methods** In 46 cases of hepatocellular carcinoma, we examined the CD34 expression in tumor and surrounding non-tumorous liver tissue using immune histochemistry. Microvessel density was also calculated. **Results** The expression of CD34 was diffuse and strong in all hepatocellular carcinoma tissue and sparse in adjacent area of the surrounding cirrhotic regenerating nodule. The mean microvessel density was not significantly different between in the group of Edmondson's grade I-II ($n=30$, 25.9 ± 15.5) and the group of Edmondson's grade III-IV ($n=16$; 33.1 ± 11.8 ; $P=0.085$). And it was not significantly different either between the patients ($n=27$) with tumor smaller than 4.6cm (30.6 ± 15.1) and the patients ($n=19$) with larger than 4.6cm (25.3 ± 13.6 , $P=0.225$) in diameter. However overall survival was worse in patients ($n=22$) with high microvessel density (>28.4) than in patients ($n=24$) with low microvessel density significantly ($P=0.043$). **Conclusion** The expression of CD34 may serve as the diagnostic tool in differentiating hepatocellular carcinoma from benign regenerating nodule. Although microvessel density showed no significant correlation with size and histopathological grade of hepatocellular carcinoma, angiogenesis may be used as a prognostic marker.

Key Words: Hepatocellular carcinoma, Angiogenesis, Microvessel density, CD34

서론

혈관신생은 정상적인 조직의 성장과 유지뿐만 아니라 상처치유, 면역작용 그리고 여러 가지 병리 현상과도 깊은 관계를 가지고 있으며,¹⁻⁴⁾ 악성종양의 발생, 성장, 진행 그리고 전이에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.⁵⁻⁷⁾ 이와 함께 혈관신생의 중요성은 여러 가지 악성종양에서 광범위하게 연구되어 왔다.⁷⁻¹²⁾ 그러나 간세포암에서의 연구는 아직까지 미미한 상태이

다. 간세포암은 혈관신생에 기인한 혈관과다증양으로 알려져 있으나,¹³⁾ 혈관신생의 정도는 각각의 개체마다 차이가 있을 것으로 생각되며, 혈관신생의 정도와 간세포암의 진행사이에 어떤 관련성이 있을 것으로 생각된다.

혈관신생의 정도를 측정하기 위해서는 정상적인 간소엽내 내피세포와 신생혈관의 내피세포를 구분할 수 있는 표지자가 필요한데, 현재까지는 CD34 항원이 예민도와 특이도가 가장 높은 것으로 알려져 있다.^{14,15)} 즉 신생혈관의 내피세포 내 존재하는 CD34 항원에 대한 단클론항체를 이용하여 면역조직화학적 방법으로 염색하여 광학현미경으로 관찰함으로써 혈관신생의

교신저자 한 병 훈

TEL 051-240-6213 · FAX 051-248-5686
E-mail bhhan@ns.kosinmed.or.kr

정도를 계측해 낼 수 있다고 한다.¹⁶⁻¹⁹⁾

저자들은 CD34가 간세포암과 주위조직에서 어떤 형태로 발현되는가를 관찰하고, 이들 혈관의 신생 정도를 나타내는 미세혈관 밀도를 측정하여 간세포암의 조직분화도, 크기 그리고 환자의 생존에 어떤 영향이 있는가를 규명하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

1995년 1월부터 1998년 12월까지 고신대학교 부속 복음병원에서 간세포암으로 치료적 간절제술을 받은 후 일정기간 동안의 추적관찰과 병리학적 재검색이 가능했던 46예를 대상으로 하였다.

2. 방법

환자들의 진료기록지를 검토하여 수술 전 간기능, 간세포암의 크기, 환자들의 생존기간 등을 알아냈고, 간세포암의 병리조직학적 검토는 파라핀에 포매하여 보관하고 있던 간세포암과 그 주변조직을 이용하였다.

1) 간세포암의 조직학적 등급

헤마톡실린-에오진 염색을 실시하여 Edmondson-Steiner의 기준²⁰⁾에 따라 4등급으로 구분하였다.

2) 미세혈관의 염색

면역조직화학적 염색을 시행함에 있어서 avidin-biotin peroxidase complex (ABC)법²¹⁾을 이용하였다. CD34항원은 항 CD34 단클론항체 (QB-END/10, Monosan)를 1:50으로 희석하여 면역 염색하였다. 간세포암에 염색되는 정도를 비교하기 위하여 간세포암 주변조직도 함께 염색하였다. 비 특이적인 배경염색을 방지하기 위하여 항 CD34 단클론항체 대신에 동일 농도의 정상 산양 혈청을 도포하였다.

3) 미세혈관의 밀도 측정

저배율 시야에서 미세혈관 수가 가장 많은 부위를 찾아 400배 시야에서 CD34 항원이 면역조직화학적 방법으로 염색된 신생혈관의 수를 세 군데에서 측정하여 이들의 평균값을 미세혈관 밀도로 정하였다.

4) 통계

통계적 유의성은 Student t 검정을 이용하였으며 환자들의 생존율은 Kaplan-Meier법으로 구하였다. p값이 0.05 이하인 경우에 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결과

1. 환자 중 남자는 33명, 여자는 13명이었고 이들의 평균연령은 46.8 ± 9.6 세였다. 대장환자 전 예에서 간경변증을 동반하고 있었으며 Child등급 A에 해당하는 경우가 41예, B에 해당하는 경우가 6예였다. 그러나 C에 해당하는 환자는 한 예도 없었다. 간세포암의 평균 지름과 신생혈관밀도는 각각 4.6 ± 1.9 cm, 28.4 ± 9.6 개였으며, 환자들의 평균 생존기간은 80.0 ± 10.0 주였다.(Table 1)

Table 1. Clinico-pathological characteristics of 46 cases of surgically resected hepatocellular carcinoma

Number of cases	46
Mean age(yrs)	46.8 ± 9.6
Male/Female	33/13
Liver function status	
Liver cirrhosis	
Child A/B/C	40/6/0
Mean microvessle density	28.4 ± 9.6
Mean survival(weeks)	80.0 ± 10.0
Edmondson's grade	
I, II/III,IV	30/16

2. CD34 항원은 전 예의 간세포암조직에서 뚜렷하게 나타났으며 주위 간경변 조직에서는 재생결절 주위로 미약하게 발현하였다.(Fig. 1)

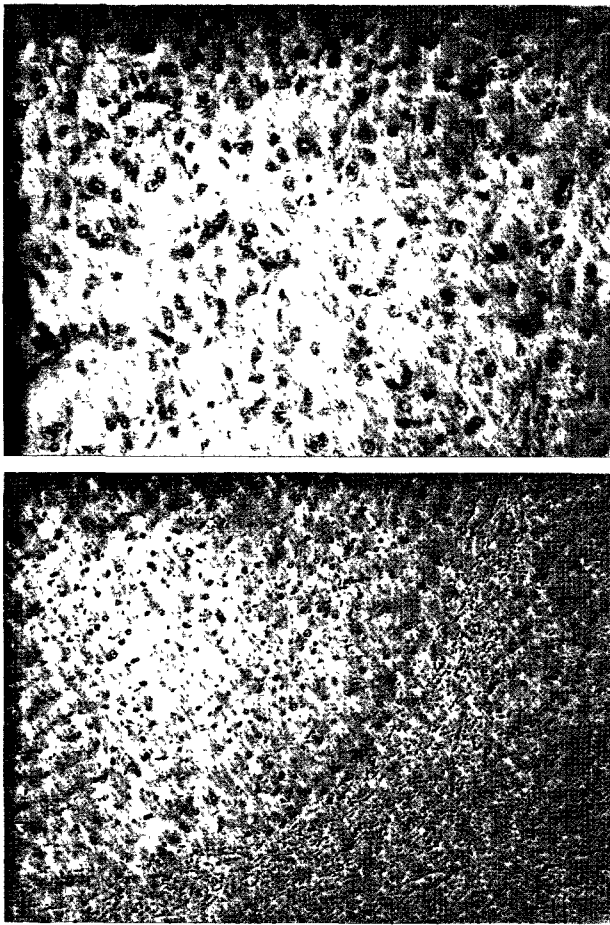


Fig 1. Immunohistochemical labeling for CD34 in well-differentiated hepatocellular carcinoma tissue (A) and surrounding cirrhotic regenerating nodule (B). The expression of CD34 was diffuse and strong in hepatocellular carcinoma tissue (avidin biotin complex method, $\times 400$) and sparse in adjacent area of the surrounding regenerating nodule (avidin biotin complex method, $\times 100$).

3. 미세혈관의 밀도는 간세포암조직과 주변 간경변 조직에서 각각 28.4 ± 14.6 , 6.6 ± 5.6 개로 간세포암 조직에서 유의하게 높았다($P=0.001$). 조직학적 등급이 저등급(Edmondson's grade I-II)인 조직표본 30예에서 미세혈관밀도는 25.9 ± 15.5 개였고, 고등급(Edmondson's grade III-IV)인 조직표본 16예에서는 33.1 ± 11.8 로 고등급 군에서 증가하는 경향을 보였다($P=0.085$). 종양의 크기가 4.6 cm 미만인 27예와 4.6 cm 이상인 19예의 신생혈관 밀도는 각각 30.6 ± 15.1 개, 25.3 ± 13.6 개로 종양의 크기가 큰 경우에 낮았으나 통계적 유의성은 보이지 않았다.(Table 2)

Table 2. Change of microvessel density according to clinicopathological Features

	Microvessel density (n=46)	P-value
In liver tissue		0.001
Tumor	28.4 ± 14.6 (46)	
Cirrhosis	6.6 ± 5.6 (46)	
Edmondson's grade		0.085
I-II	25.9 ± 15.5 (30)	
III-IV	33.1 ± 11.8 (16)	
Size		
≥ 4.6 cm	25.3 ± 13.6 (27)	
< 4.6 cm	30.6 ± 15.1 (19)	

4. 평균 신생혈관 밀도 28.4개를 기준으로 저밀도 군과 고밀도 군으로 나누었을 때, 수술 후 생존율은 64주까지 저밀도 군에서 유의하게 높았다($P=0.043$, Fig. 2)

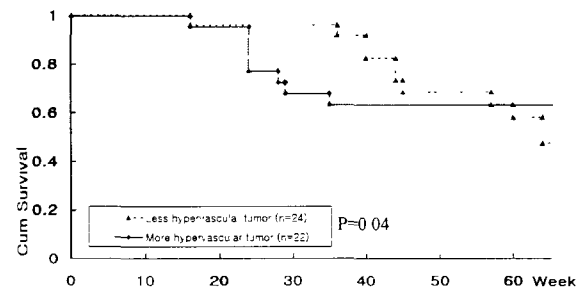


Fig. 2. Overall survival curves of two groups delineated by a mean microvessel density.(28.4) Overall survival was lower in the group of less vascular tumor than in the group of more hypervascular tumor .($p=0.04$)

고찰

혈관신생은 악성종양의 진행에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.⁵⁻⁷⁾ 간세포암도 혈관신생에 의한 특징적인 혈관 과형성 종양으로서,¹³⁾ 이 혈관 과형성이 간세포암의 진행을 빠르게하는 한 요인이 될 것으로 생각된다. 그러나 현재 혈관신생과 간세포암과의 관련성에 관한 연구는 시작단계에 불과하다.

신생 미세혈관 내피세포 내에는 특이 항원인 CD34, von Willebrand factor (vWF) 그리고 Ulex europaeus agglutinin I (UEA I) 등이 있으며, 이들에 대한 특이항

체를 이용한 면역조직화학 염색으로 혈관신생을 관찰할 수 있다고 한다.^{14,15)} 이때 이웃한 미세혈관, 종양세포, 그리고 다른 결합조직성분 등에 의하여 분리된 내피세포나 내피세포의 모임들을 계수 측정하여 혈관 신생의 정도를 나타내는 미세혈관 밀도를 산정할 수 있다.¹⁶⁻¹⁹⁾ 이 항원 중 CD34 항원이 예민도와 특이도 면에서 가장 우수한 것으로 알려져 있다.^{14,15)} CD34 항원은 조혈모세포에서 만들어지는 단백질로 알려져 있었으나 최근에 종양조직내 혈관신생의 표지자임이 밝혀졌고²²⁾ 간세포암 조직에서는 신생혈관 내피세포에만 나타나며 간소엽내 정상 내피세포에는 발현되지 않는다는 것이 확인되었다.^{15,23)}

본 연구에서 CD34 항원은 전 예의 간세포암 조직에서 뚜렷하게 나타났다. 간세포암 주위 간경변 조직에서는 재생결절 주위로 미약하게 나타나 간세포암과 주위 조직과 뚜렷하게 구분되는 양상을 보여 간세포암의 진단에 유용하게 사용할 수 있을 것으로도 생각되었다. 간세포암과 비간세포암 조직을 구분할 목적으로 CD34 항원과 함께 앞에 언급된 여러 혈관신생을 나타내는 내피세포 표지자들을 사용하였는데, CD34 항원이 특이도가 가장 높았다는 연구결과가 있다.²³⁾ 또한 간실질내 생긴 미세결절이 악성종양인지 아닌지 구분하는데 있어서 기존의 고전적인 병리조직학적 방법으로 불가능한 경우에도 CD34 항원의 발현으로 간세포암을 진단할 수 있다고 한다.^{24,25)} 즉 미세결절이 악성종양이면 결절 내부에 CD34 항원이 미만성 혹은 국소적으로 뚜렷하게 발현되며, 악성종양이 아닌 경우에는 그 정도가 매우 미약하다고 한다.^{24,26)} 본 연구에서는 간세포암 주위 재생결절에는 CD34 항원이 발현되지 않았고, 그 주위로 미약하게 발현되었다. 그러한 현상이 간세포암으로 진전되는 과정에 나타나는 현상인지 아닌지는 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각되었다.

간세포암으로 간절제술을 시행한 환자들의 장기적인 예후는 다양하다. 여러 연구에 의하면 종양의 크기, 간경변의 정도 그리고 조직분화도 등이 간세포암의 예후에 영향을 준다고 한다.²⁷⁻³¹⁾ 본 연구에서는 간세포암의 예후에 영향을 주는 것으로 알려진 종양의 크기 그리고 조직분화도 등이 미세혈관의 밀도와 어떤 관련성이 있는지를 확인하고, 미세혈관의 밀도가 환자 생존에 어떤 영향을 미치는 지를 알아보았다. 본 연구에서는 종양의 크기를 대상 환자들의 간세포암 평균 지름

인 4.6 cm을 기준으로 그 이상인 군과 그 이하인 군으로 나누어 비교하여 본 결과 통계적 유의성은 없었으나 종양의 크기가 큰 군에서 오히려 CD34 항원의 발현 정도가 낮았다. El-Assal³²⁾은 간세포암의 크기를 2 cm을 기준으로 구분하였을 때, 그 이상인 군의 미세혈관 밀도는 그 미만인 군의 미세혈관 밀도보다 유의하게 높았으며, 종양의 크기가 5 cm 이상이 되면 미세혈관의 밀도가 감소하였다고 하였다. 이 결과는 간세포암의 크기가 2 cm 미만인 예가 없어서 비교하지 못했으나 종양의 크기가 4.6 cm 이상인 군에서 미세혈관의 밀도가 감소하였다는 본 연구의 결과와 유사함을 알 수 있었다. 이러한 현상은 종양이 일정 크기에 달하면 미세혈관의 밀도가 감소하거나 더 이상 증가하지는 않음을 시사하는 것으로 보인다. 이것은 아마도 종양의 성장하면서 혈관신생이 감소하는 것이 아니라 종양의 성장 속도가 혈관의 성장 속도를 능가하면서 미세혈관과 미세혈관간의 거리가 멀어진다는 연구결과로^{33,34)} 설명이 가능하다.

다음으로 미세혈관의 밀도와 간세포암의 조직분화도와와의 관계를 보면 본 연구에서 간세포암의 조직학적 등급이 높은 군에서 미세혈관 밀도가 증가하는 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다. Tanigawa³⁵⁾은 조직학적 등급이 높을 수록 미세혈관의 밀도가 증가했다고 하였으나, El-Assal³²⁾과 Kimura³⁶⁾에 의하면 아무런 관련성이 없었다고 한다. 또한 간세포암에서 조직학적 등급이 낮은 경우에는 암세포가 미세혈관에 인접하여 증식하며, 조직학적 등급이 높은 간세포암에서는 미세혈관에서 멀리 떨어진 곳에서도 관찰되어 암세포 증식은 조직학적 등급이 낮은 군에서는 혈관신생이 중요하게 작용하고 조직학적 등급이 높은 군에서는 혈관신생보다는 다른 요인이 더 중요하게 작용하고 있는 것 같다는 가설³⁶⁾도 있다. 이들을 종합하여 볼 때 조직학적 등급과 미세혈관 밀도사이에 일정한 관련성은 확실치 않으며 이를 규명하는 데는 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

마지막으로 미세혈관 밀도와 환자의 생존율 사이에 관련성을 확인해 보았는데, El-Assal³²⁾과 Tanigawa³⁵⁾는 미세혈관의 밀도가 높을수록 환자의 생존율이 감소하는 것으로 나타났다. 본 연구에서도 간세포암의 평균 미세혈관 밀도는 28.4개였으며, 미세혈관 밀도가 28.4 이상인 고밀도군이 28.4 미만인 저밀도군의 생존율을 비교한 바 통계적 판단이 가능하였던 수술 후 64

주까지는 고밀도군 환자들의 생존율이 저밀도군의 환자들에 비해 유의하게 낮게 나타났다. 이로 미루어 보아 혈관신생은 환자의 생존에 불리하게 작용하는 것으로 보인다. 그러나 간세포암의 크기와 조직학적 등급이 미세혈관 밀도와 어떤 확실한 관련성이 확인되지 않은 점으로 미루어 보아 혈관신생은 이들과 관계없이 독립적으로 간세포암 환자의 생존기간에 영향을 미치는 것으로 생각되었다. 환자의 생존기간에 영향을 주는 요인들 중 하나가 간경변증의 진행정도이며, 간경변증이 진행될수록 혈관신생이 증가하였다는 연구결과³²⁾도 있어 미세혈관의 밀도가 증가하는 것은 간경변증이 진행됨을 의미하며 간경변증의 진전은 환자의 생존을 단축시키는 요인이 될 수도 있다. 그러나 본 연구에서는 대상환자 전 예가 간경변증을 동반하고 있었으나 Child등급 A가 41 예로 대부분을 차지하여 간경변증의 진행정도에 따른 미세혈관 밀도나 환자의 예후와의 관련성을 확인 할 수 없었다.

요약하면 간세포암에는 CD34 항원의 발현이 뚜렷하고 인접한 재생결절에는 발현되지 않은 점으로 미루어 보아 간경변증에서 보는 미세결절의 간세포암인지 아닌지 구분하는 진단적 도구로 이용될 수 있을 것으로 생각되었다. 간세포암의 크기가 어느 이상 증가하면 미세혈관밀도는 더 이상 증가하지 않은 것으로 보였는데, 이것은 종양이 성장하면서 미세혈관 수가 감소하는 것이 아니라 종양의 성장 속도가 혈관의 성장 속도를 능가하면서 미세혈관과 미세혈관간의 거리가 멀어짐에 기인 하는 것으로 생각되었다. 간세포암의 조직분화도 즉 조직학적 등급이 높은 군에서 미세혈관 밀도가 증가하는 경향을 보였으나 통계적 유의 수준에는 미달 하였다. 미세혈관 밀도는 환자의 생존율에 영향을 미치는 것으로 나타났으며, 이는 간세포암의 조직분화도나 크기와 관련없이 독립적으로 영향을 미치는 것으로 생각되었다.

결론

간세포암에는 CD34항원의 발현이 뚜렷하고 인접한 재생결절에는 발현되지 않는다는 점에서 간경변에서 보이는 미세결절과 간세포암의 구별에 대한 진단적 도구로 이용될 수 있을 것이다. 그리고 CD34 항원이 발현되는 양상을 보아 간세포암에서 혈관신생이 활발하

게 일어남을 알 수 있었다. 혈관 신생은 간세포암의 크기, 조직학적 등급과의 관련성은 확실치 않으나 환자의 생존에는 영향을 미치는 것으로 보인다.

참고문헌

1. Ross R : The pathogenesis of atherosclerosis and update N Engl J Med 314:488-500, 1986
2. Folkman J, Klagsbrun M : Angiogenic factors Science 235:442-447, 1987
3. Norrby K, Jakobsson A, Simonsen M, Sorbo J : Increased angiogenesis in diabetes. Experientia 46:856-860, 1990
4. Nickoloff BJ, Karabin GD, Barker J : Cellular localization of interleukin-8 and its inducer, tumor necrosis factor-alpha in psoriasis Am J Pathol 138:129-140, 1991
5. Folkman J : What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent ? J Natl Cancer Inst 82:4-6, 1990
6. Liotta LA, Steeg PS, Stetler-Stevenson WG : Cancer metastasis and angiogenesis. an imbalance of positive and negative regulation. Cell 64:327-336, 1991
7. Svirivastava A, Laidler P, Davies R, Horgan K, Hughes L. The prognostic significance of tumor vascularity in intermediate thickness(0.76-4.0 thick) skin melanoma Am J Pathol 133:419-423, 1988
8. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J : Tumor angiogenesis and metastasis correlation in invasive breast carcinoma N Engl J Med 324:1-8, 1991
9. Macchiarini P, Fontanini G, Hardin MJ, Squartini F, Angelletti CA : Relation of neovascularization to metastasis of non-small-lung cell cancer Lancet 340:145-146, 1992
10. Weidner N, Carrol RP, Flax J, Blumenfeld W, Folkman J : Tumor angiogenesis correlate with metastasis in invasive prostate carcinoma Am J Pathol 143:401-409, 1993
11. Albo D, Granick M, Jhala N, Atkinson B, Solomon N : The relationship of angiogenesis to biological activity in human squamous cell carcinoma of the head and neck. Ann Plast Surg 32:558-594, 1994
12. Porschen R, Classen S, Piontek M, Borchard F : Vascularization of carcinomas of esophagus and its correlation with tumor proliferation Cancer Res 54:709-714, 1994
13. Haratake J, Scheuer PJ : An immunohistochemical and ultrastructural study of the sinusoids of hepatocellular carcinoma Cancer 65:1985-1993, 1990
14. Ramani P, Bradley NJ, Fletcher CD : A new monoclonal antibody to endothelium: assessment of its diagnostic utility in paraffin sections Histopathology 17:237-242, 1990
15. Anthony PP, Ramani P : Endothelial markers in malignant vascular tumors of the liver: superiority of QB-END/10 over Von Willebrand factor and ulex europaeus agglutinin

1. J Clin Pathol 44:29-32, 1991
16. Weidner N : Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. Am J Pathol 147:9-19, 1995
17. Tanigawa N, Amaya H, Matsumura M : Extent of tumor vascularization correlates with prognosis and hematogenous metastasis in gastric carcinoma. Cancer Res 56:2671-2676, 1996
18. Tanigawa N, Matsumura M, Amaya H : Tumor vascularity correlates with prognosis of patients with esophageal squamous cell carcinomas. Cancer 79:220-225, 1997
19. Tanigawa N, Amaya H, Matsumura M, Lu C, Kitaoka A, Muraoka R : Tumor angiogenesis and mode of metastasis in patients with colorectal cancer. Cancer Res 57:1043-1046, 1997
20. Edmondson HA, Steiner PE : Primary carcinoma of the liver: a study of 100 cases among 48,900 necropsies. Cancer 7:462-503, 1954
21. Hsu SM, Raine L, Fanger H : A Comparative study of the peroxidase-antiperoxidase method and an avidin-biotin complex method for studying polypeptide hormone with radioimmunoassay antibodies. Am J Clin Pathol 75:734-738, 1981
22. Traweek ST, Kandalaft PL, Mehta P, Battifora H : The human hematopoietic progenitor cell antigen (CD34) in vascular neoplasia. Am J Clin Pathol 96:25-31, 1991
23. Ruck P, Xiao JC, Kaiserling F : Immunoreactivity of sinusoids in hepatocellular carcinoma: an immunohistochemical study using lectin UEA-L and against endothelial markers-including CD34. Arch Pathol Lab Med 119:173-178, 1995
24. Cui S, Hano H, Sakata A : Enhanced CD34 expression of sinusoid-like vascular endothelial cells in hepatocellular carcinoma. Pathol Int 46:751-756, 1996
25. Scott FR, El-Refaie A, More L, Scheuer PJ, Dhillon AP : Hepatocellular carcinoma arising in an adenoma: value of QBend 10 immunostaining in diagnosis of liver cell carcinoma. Histopathology 28:472-474, 1996
26. Ruck P, Xiao JC, Kaiserling E : QBend 10 (CD34) in the diagnosis of hepatocellular carcinoma [Letter]. Histopathology 29:593-594, 1996
27. Di Carlo V, Ferrari G, Castoldi R : Surgical treatment and prognostic variables of hepatocellular carcinoma in 122 cirrhotics. Hepatogastroenterology 42:222-229, 1995
28. Arii S, Okamoto E, Imamura M : Registries in Japan: current status of hepatocellular carcinoma in Japan. Liver Cancer Study Group of Japan. Semin Surg Oncol 204-211, 1996
29. Adachi E, Maeda T, Kajiyama K : Factors correlated with portal venous invasion by hepatocellular carcinoma. Univariate and multivariate analyses of 232 resected cases without preoperative treatments: Cancer 77:2022-2031, 1996
30. Lee CS, Sheu JC, Wang M, Hsu HC : Long-term outcome after surgery for asymptomatic small hepatocellular carcinoma. Br J Surg 83:330-333, 1996
31. Nakajima Y, Shimamura T, Kamiyama T : Evaluation of surgical resection for small hepatocellular carcinomas. Am J Surg 171:360-363, 1996
32. El-Assal ON, Yamanoi A, Soda Y : Clinical significance of microvessel density and vascular endothelial growth factor expression in hepatocellular carcinoma and surrounding liver: possible involvement of vascular endothelial growth factor in the angiogenesis of cirrhotic liver. Hepatology 27:1554-1562, 1998
33. Tannock IF, Steel GG : Quantitative technique for study of the anatomy and function of small blood vessels in tumors. J Natl Cancer Inst 42:771-782, 1969
34. Vaupel P : Hypoxia in neoplastic tissue. Microvasc Res 13:399-408, 1997
35. Tanigawa N, Lu C, Mitsui T, Miura S : Quantitation of sinusoid-like vessels in hepatocellular carcinoma: its clinical and prognostic significance. Hepatology 26:1216-1223, 1997
36. Kimura H, Nakajima T, Kagawa K : Angiogenesis in hepatocellular carcinoma as evaluated by CD34 immunohistochemistry. Liver 18:14-19, 1998