

위암에서 종양관련 단백질들과 COX-2 발현의 상관성

한양대학교 구리병원

유 숙·노정환·김종열

Correlations between Expression of Tumor-Related Proteins and COX-2 in Gastric Cancer

Suk Yu, Jeong-Hwan Noh, and Jong-Yull Kim

Department of pathology, Hanyang University Guri Hospital, Guri 471-701, Korea

It has been reported the higher incidence rate of gastric cancer in our country. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), that exhibited a higher infection rate among Korean people, has been known as a cofactor to cause cancer. Therefore, the aim of this study was to identify correlations among overexpressions of COX-2 (Cyclooxygenase-2) gene, p53 mutation and cell proliferation index related to *H. pylori*. Taking 28 cases of gastric cancer with *H. pylori* detection, immunohistochemical staining for COX-2, p53 and Ki-67 were performed. In the *H. pylori* positive group, the well differentiated type and diffuse type of gastric cancer were distributed in larger area and the expression rate of COX-2 was revealed high. The *H. pylori* negative group showed higher p53 expression than that of the positive group. However, the statistical correlation between *H. pylori* and histopathological factors was not observed. The significantly higher expression of COX-2 had were observed in both well differentiated type and the intestinal type of gastric cancer. Although there were no statistical significances, this showed a higher inclination of manifest in the early gastric cancer. p53 exhibited a higher tendency of expression in the well differentiated, moderately differentiated and the intestinal type of gastric cancers including the early gastric cancer. Ki-67 was expressed in a significantly higher fashion along with the increase of age. In addition, it was significantly expressed in well differentiated type and intestinal type of gastric cancer. Therefore, these results suggest that *H. pylori*, COX-2, p53, and Ki-67 influences on the new occurrence of gastric cancer and its development procedures. In the future, the more researches would be required to focus on a larger category relative to gene expressions in gastric cancer.

Keywords : COX-2, *H. pylori*, p53, Ki-67

I. 서 론

교신저자 : 유 숙, (우) 471-701. 경기도 구리시 교문동 249-1
한양대학교구리병원 병리과
Tel : 031-560-2648
E-mail : ysuk333@dreamwiz.com

위암은 위에 발생하는 악성 종양으로 발생률은 전 세계적으로 볼 때 서서히 감소하고 있으나, 아직도 두 번째로 많이 발생하는 암으로 연간 1백만 명이 사망하고 있는

실정이다(Hoel 등, 1992; Murray 등, 1997). 위암의 발생 빈도는 국가에 따라 차이가 있는데 아시아에서 흔하게 발생하며 서유럽에서 가장 적게 발생한다. 위암은 주로 경제적 사회 수준이 낮은 나라에 많이 발생하며 한 나라에서도 경제적 사회적 수준이 낮은 사람에게 많이 발생하는 경향이 있다(Barker 등, 1990).

국내에서의 위암은 암 사망 중 제일 많은 원인으로 매년 14,000명 정도의 환자가 발생하고 이 중 약 7,500명이 위암으로 사망한다(Shin 등, 2002). 위암은 남자가 여자보다 2배 정도 많이 발생하고 40대 이후 급격히 증가하여 60세 이후에는 가장 많이 발생한다. 최근 위암 사망률은 서서히 감소하는 추세이지만 노인 인구의 증가로 위암 발생환자수는 도리어 증가하고 있는 실정이다.

위암의 발암기전은 유전자 변이, 감염에 따른 활성 산소 발생에 의한 유전자의 손상, 위축성 위염의 만성적 진행, 환경인자 등에 의해 발생한다고 한다. 1999년 대한 *H. pylori* 연구회의 발표에 따르면 국내 정상인에서 *H. pylori* 감염은 유아기 때부터 감염되어 성인의 70-80에 이르고 있다. 국내에서 높은 감염률을 보이는 *H. pylori*는 위암 발생의 보조 인자로서 보고 된 바가 있다(Asaka 등, 1997; Ernst 등, 1999). *H. pylori*의 감염에 의한 위점막의 세포자멸사가 보고되면서 이러한 세포자멸사의 증가가 과도한 증식 반응을 초래하며 위암 발생에 기여할 것이라고 제시되었다(Moss 등, 1996). *H. pylori*의 감염은 염증 세포가 침윤되고 염증세포에서 발생된 활성 산소에 의해 유전자의 손상과 변이를 초래하고(Lish 등, 1997), *H. pylori*에 감염된 환자에서 위암종이 발생할 위험이 6배 정도 높다는 것이 역학적 검사에 의해 확인되었다(Konturek 등, 1999). 따라서 *H. pylori* 감염률이 높은 국내에서는 이와 연관된 발암 인자들에 대한 연구가 이루어져야한다.

최근 *H. pylori* 와 관련된 발암유전자 중 COX-2가 주목을 받고 있다(Romano 등, 1998). 그 이유는 COX-2가 사이토카인, 내독소, 세포 성장인자, 암 촉진자 등의 외부 자극에 의하여 발현되는데(Kargman 등, 1996; Eberhart 등, 1995), *H. pylori*의 감염에 의한 COX-2의 과발현은 gastrin을 증가시키고 위산 분비를 증가시킴으로써 위점막 세포를 증식시키는 반면 세포자멸사를 감소시켜 장암과 선종성 대장 용종 그리고 식도암과 위암 발생을 촉진

한다고 한다(Stoehlmacher 등, 2003). 또한 COX-2 발현의 증가는 종양의 침습도, 전이 정도와 관련이 있다고 보고되고 있다(Kleibeuker 등, 2004). 특히 COX-2의 발현은 위암의 진행 단계와 관계를 가지고 위암의 예후와 밀접한 관계를 가지고 있다고 한다(Tatsuguchi 등, 2004).

p53은 단백질 종양 억제 유전자로서 17번 염색체에 존재하며 53 KD의 핵단백을 생성하는 종양특이항원으로 세포주기 조절, DNA 복구 및 합성, 세포자멸사에 중요한 역할을 한다고 보고하였다(Lane, 1992). 거의 모든 종류의 종양에서 p53 변이가 발견되며, 특히 피부, 방광, 대부분의 소화기, 호흡기 종양에서 높은 변이율을 나타낸다고 한다(Hernandez-Boussard 등, 1999). 위암의 경우 전암 병변인 위선종에서도 p53변이와 p53단백질의 축적이 나타난다고 보고하였다(Romiti 등, 1998). 정상적인 p53은 세포의 분화와 성장 그리고 세포자멸사에 관여하여 암을 억제하는 기능이 있지만 변이가 발생하면 세포자멸사에 장애를 일으키고 비정상적인 세포 증식을 야기하므로 악성 종양에서 세포자멸사를 간접적으로 확인 할 수 있는 지표로서 활용된다고 한다(Leung 등, 2001). COX-2 발현을 조절하는 기전은 명확하지 않으나 위암에서 p53 유전자의 변이가 있을 경우, COX-2의 발현이 유의하게 높다는 보고가 있다(Leung 등, 2001). 그리고 두 유전자의 발현 시기가 서로 다르지만 서로 상관관계가 있다는 사실이 보고되었다(민 등, 2003). 위암 환자에서 완치를 기대할 수 있는 방법은 외과적 절제술이다. 조기위암의 경우에 5년 생존율이 90% 이상으로 그 예후가 좋으나 우리나라의 경우 70% 이상의 환자가 진행성위암으로 수술을 받기 때문에 진행성위암의 예후를 예측할 수 있는 인자를 밝혀내고 그에 따른 수술 후 치료 방침을 정하는 것이 필요하다.

이에 본 연구는 위암에서 *H. pylori*의 감염에 따른 차이를 조사하고, *H. pylori* 와 관련된 COX-2의 과발현과 p53 유전자의 변이 및 세포 증식 지수의 변화를 비교 분석하여 그 예후를 예측하고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구재료

본 실험은 2003년부터 2005년까지 한양대학교 구리병원에서 위선암으로 진단받고 외과적 위장절제술을 시행한 조직 중 *H. pylori* 검출을 위한 CLO(Campylobacter like organism) 검사와 Giemsa 염색의 결과가 일치하는 28예를 대상으로 실시하였다.

2. 방법

1) 병리 조직학적 분석

환자들의 병력 기록지를 재검토하여 나이, 성별, *H. pylori*의 존재 유무를 확인하였고, H&E(hematoxylin과 eosin) 염색을 실시하여 조직학적 분화도, 종양의 침습 깊이 및 림프절 전이 유무를 확인하였다. H&E 염색을 실시하여 조직학적 분화도를 WHO(World Health Organization)와 Lauren(1965)의 분류에 따라 각각 조사하였으며, 종양의 침습 깊이와 림프절 전이의 유무를 조사하였다.

2) H&E 염색

10% 포르말린 용액에 고정된 조직을 수세한 후, 파라핀 침투 과정과 포매과정을 거쳐 파라핀 블록을 만들고, 파라핀 블록을 박절기를 이용하여 4 μ m 두께로 박절하여 유리 슬라이드에 부착시켰다. 준비된 조직절편 슬라이드는 탈파라핀과 함수과정을 거쳐, Harris hematoxylin 용액과 eosin용액으로 핵과 세포질을 각각 염색한 다음, 수세, 탈수 및 투명과정을 거쳐 봉입하여 광학현미경으로 검경하였다.

3) 면역조직화학염색

일반적인 조직표본 제작방법을 통해 제작된 파라핀 블록을 4 μ m 두께로 박절하였고, 전처리 과정에서 조직 표본의 탈락을 방지하기 위해 3-aminopropyltriethoxy-silane (Sigma Chemical, USA)용액으로 처리된 코팅 슬라이드에 절편을 부착시킨 후, 탈파라핀과 함수과정을 실시하였다. 항원 복구를 위해 Ki-67과 p53은 pH 6.0 10 mM 구연산 완충액에 담가 autoclave에서 121°C 10분간 처리하였

고, COX-2는 pH 6.0 10 mM 구연산 완충액에 담가 microwave oven에서 10분간 처리하였다. 10% H₂O₂ methanol을 사용하여 내인성 인자의 활성을 억제하였다. pH 7.6 Tris 완충액으로 10분간 수세를 한 후 일차 항체인 COX-2(Novocastra, United Kindom, NCL-cox-2, mouse monoclonal antibody, 1:100), p53 (DAKO, Denmark, clone DO-7, mouse monoclonal antibody, 1:100) 그리고 Ki-67(DAKO, Denmark, clone MIB-1, mouse monoclonal antibody, 1:100)을 1시간동안 실온에서 반응시켰다. pH 7.6 Tris 완충액으로 수세한 후, EnVision(DAKO, Denmark)을 30분 동안 반응시켰다. pH 7.6 Tris 완충액으로 수세한 후, 발색제인 3,3'-diaminobenzidine tetrachloride (DAB)를 사용하여 광학현미경으로 관찰하며 발색한 후, Mayer hematoxylin으로 핵에 대조 염색을 실시하였다. Canada balsam(Kanto Chemical, Japan)으로 봉입하고 광학현미경하에서 관찰하였다.

4) 면역조직화학염색의 평가 및 통계처리

COX-2는 광학현미경으로 관찰하여 세포질에 갈색으로 염색된 경우를 양성으로 판정하였고, p53과 Ki-67은 광학현미경으로 관찰하여 핵에 갈색의 과립상으로 염색되면 양성으로 판정하였다. 평가는 반정량적인 방법으로 전체 종양 조직에서 양성 세포의 백분율이 0~5% 인 경우를 group I, 6~20% 인 경우를 group II, 21~40% 인 경우를 group III, 41~60% 인 경우를 group IV, 61~80% 인 경우를 group V 그리고 81~100% 인 경우를 group VI로 구분하였다. 통계처리는 SPSS Windows version 10.0 프로그램을 이용하였으며 p값이 0.05 미만인 경우 통계학적인 유의성이 있다고 평가하였다.

III. 결 과

1. 병리 조직학적 분석

대상 조직을 제공한 환자의 분포를 조사한 결과, Table 1에서 보는 바와 같이, 40세 이하가 1예, 41~60세가 9예 그리고 61세 이상이 18예로써 분포하여 연령이 높아질수록 분포가 높게 나타났고, 남자 18예, 여자 10예로써 여

Table 1. Distribution of histopathological parameter in 28 gastric cancer

Parameter	Classification	No. of case (%)
Age	≤40 Y	1 (3.6)
	41-60 Y	9 (32.1)
	>60 Y	18 (64.3)
Sex	Male	18 (64.3)
	Female	10 (35.7)
H. pylori	Positive	15 (53.6)
	Negative	13 (46.4)
HD*	Well	9 (32.1)
	Moderate	7 (25.0)
	Poorly	12 (42.9)
Depth of invasion**	EGC	15 (53.6)
	AGC	13 (46.4)
Lauren classification	Intestinal	16 (57.1)
	Diffuse	12 (42.9)
LM†	Positive	7 (25.0)
	Negative	21 (75.0)
Total		28 (100)

* : Histologic differentiation

** : EGC, ealy gastric cancer; AGC, advanced gastric cancer.

† : Lymph node metastasis

자에 비해 남자가 2배가량 높게 분포하였다. *H. pylori*가 감염된 경우는 15예, 감염되지 않은 경우는 13예였으며, 조직학적 분화도는 고분화가 9예, 중등도분화가 7예 그리고 저분화가 12예였다. 또한 조직의 침윤 정도에 따라 조기위암은 15예, 진행성위암은 13예였으며, Lauren type에 따라 장형위암은 16예, 미만형위암은 12예였다. 그리고 림프절에 전이된 경우는 7예였으며 전이되지 않은 경우는 21예였다. 병리 조직학적 인자에 따른 유의한 상관성은 관찰되지 않았다.

2. H. pylori 감염과 병리조직학적 인자의 비교

*H. pylori*의 감염여부에 따른 병리조직학적 결과는 Table 2와 같이, *H. pylori* 양성인 경우가 *H. pylori* 음성의 경우보다 평균연령이 4세 정도 낮았으며 *H. pylori* 양성에서 남자의 비율이 높았다. *H. pylori* 양성의 경우에 고분화가 4예, 중등도분화가 3예, 저분화가 8예로 저분화가 많았으며 *H. pylori* 음성의 경우에 고분화의 예가 많았

Table 2. Relationship between histopathological factors and *H. pylori* status in 28 gastric cancer cases

Parameter	HP*(+)	HP*(-)	P value
	No. of case (%)	No. of case (%)	
Mean age	58.73	62.92	0.163
Sex			0.208
Male	8 (53.3)	10 (76.9)	
Female	7 (46.7)	3 (23.1)	
HD†			0.309
Well	4 (26.7)	5 (38.5)	
Moderate	3 (20.0)	4 (30.8)	
Poorly	8 (53.3)	4 (30.8)	
Depth of invasion**			0.979
EGC	8 (53.3)	7 (53.8)	
AGC	7 (46.7)	6 (46.2)	
Lauren classification			0.245
Intestinal	7 (46.7)	9 (69.2)	
Diffuse	8 (53.3)	4 (30.8)	
LM‡			0.835
Positive	4 (26.7)	3 (23.1)	
Negative	11 (73.3)	10 (76.9)	
COX-2			0.372
Positive	15 (100)	11 (84.6)	
Negative	0 (0)	2 (15.4)	
p53			0.296
Positive	11 (73.3)	11 (84.6)	
Negative	4 (26.7)	2 (15.4)	
Ki-67			0.927
Positive	15 (100)	13 (100)	
Negative	0 (0)	0 (0)	
Total	15 (100)	13 (100)	

* : *H. pylori*

** : EGC, ealy gastric cancer; AGC, advanced gastric cancer.

† : Histologic differentiation

‡ : Lymph node metastasis

다. *H. pylori* 양성군과 음성군에서 모두 진행성위암의 예보다 조기위암의 예가 많았다. *H. pylori* 양성에서는 장형보다 미만형이 많이 나타났고 *H. pylori* 음성에서는 미만형보다 장형이 높게 나타났다. Ki-67은 모든 검체에서 발견되었고 *H. pylori* 음성이 양성에 비해 p53 발현률이 높았다. COX-2는 *H. pylori* 양성의 경우 모두 발견되어 *H. pylori* 음성의 경우보다 발현률이 높았다. 그러나 *H. pylori*의 감염 여부에 따른 유의한 상관성은 관찰되지 않았다.

Table 3. Relationships between histopathologic features and COX-2 staining in gastric cancer

Parameter	COX-2	
	Positive (%)	Negative (%)
Age		
≤40 Y	1 (3.6)	0 (0)
41-60 Y	8 (28.6)	1 (3.6)
>60 Y	17 (60.7)	1 (3.6)
P value		0.080
Sex		
Male	17 (60.7)	1 (3.6)
Female	9 (32.1)	1 (3.6)
P value		0.152
HD [†]		
Well	9 (32.1)	0 (0)
Moderate	7 (25.0)	0 (0)
Poorly	10 (35.7)	2 (7.1)
P value		0.000*
Depth of invasion**		
EGC	15 (53.6)	0 (0)
AGC	11 (39.3)	2 (7.1)
P value		0.097
Lauren classification		
Intestinal	16 (57.1)	0 (0)
Diffuse	10 (35.7)	2 (71.4)
P value		0.000*
LM [‡]		
Positive	6 (21.4)	1 (3.6)
Negative	20 (71.4)	1 (3.6)
P value		0.123

* : Correlation is significant at the 0.05 level (p<0.05)
 ** : EGC, ealy gastric cancer; AGC, advanced gastric cancer.
 † : Histologic differentiation
 ‡ : Lymph node metastasis

3. 병리 조직학적 성상과 단백 발현의 상관성

COX-2는 주로 세포질에 염색되었으며 강하게 발현되는 부분도 있으나 흐릿하고 약하게 염색되는 경우도 관찰되었다. Table 3에서 보고한 바와 같이, 전체 28예 중 양성으로 염색된 예는 26예였으며, 음성은 2예였다. 고분화와 중등도분화에서는 모두 발현되었고 저분화에서는 12예 중 10예만이 발현되어 저분화보다 고분화에서 통계학적으로 유의하게 높게 발현되었다(p<0.05). COX-2는 장형의 모든 예에서 발현되었고 미만형의 12예 중 10예

Table 4. Relationships between histopathologic features and p53 staining in gastric cancer

Parameter	p53	
	Positive (%)	Negative (%)
Age		
≤40 Y	1 (3.6)	0 (0)
41-60 Y	6 (21.4)	3 (10.7)
>60 Y	15 (53.6)	3 (10.7)
P value		0.256
Sex		
Male	13 (46.4)	5 (17.9)
Female	9 (32.1)	1 (3.6)
P value		0.303
HD*		
Well	8 (28.6)	1 (3.6)
Moderate	6 (21.4)	1 (3.6)
Poorly	8 (28.6)	4 (14.3)
P value		0.635
Depth of invasion**		
EGC	12 (42.9)	3 (10.7)
AGC	10 (35.7)	3 (10.7)
P value		0.870
Lauren classification		
Intestinal	14 (50.0)	2 (7.1)
Diffuse	8 (28.6)	4 (14.3)
P value		0.660
LM [‡]		
Positive	4 (14.3)	3 (10.7)
Negative	18 (64.3)	3 (10.7)
P value		0.851

* : Histologic differentiation
 ** : EGC, ealy gastric cancer; AGC, advanced gastric cancer.
 † : Lymph node metastasis

만이 발현되어 미만형보다 장형에서 통계학적으로 유의하게 높게 발현되었다(p<0.05). COX-2의 면역조직화학염색은 Fig. 1에서 보는 바와 같이, 고분화이면서 장형인 암종에서 강하게 발현되었고 저분화이면서 미만형인 암종에서 약하게 발현되었다. 침윤 깊이에 따른 통계학적인 유의한 차이는 없으나 조기위암의 경우 15예(53.6%)로 진행성위암의 11예(39.3%) 보다 높게 발현되었다. 그러나 나이, 성별 및 림프절 전이 여부에 따른 통계학적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

p53 단백질은 주로 핵에 강하게 발현되었고, Fig. 2C, D에서 보는 바와 같이, 양성으로 판정한 예의 일부에서

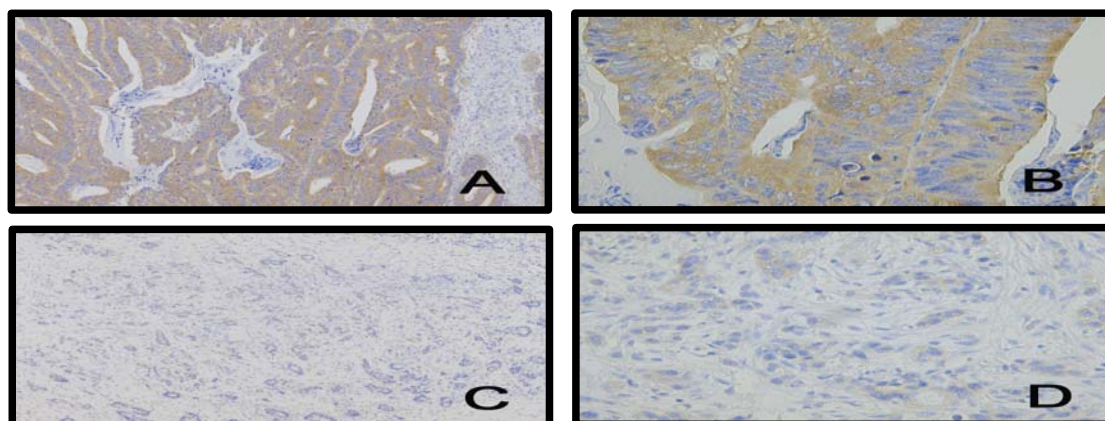


Fig. 1. Immunohistochemical staining for COX-2 in gastric cancers. The COX-2 staining showed strong positive in cytoplasm of well differentiated with intestinal type gastric cancer (A $\times 100$; B $\times 400$). The COX-2 staining showed weak positive in cytoplasm of poor differentiated with diffuse type gastric cancer (C $\times 100$; D $\times 400$).

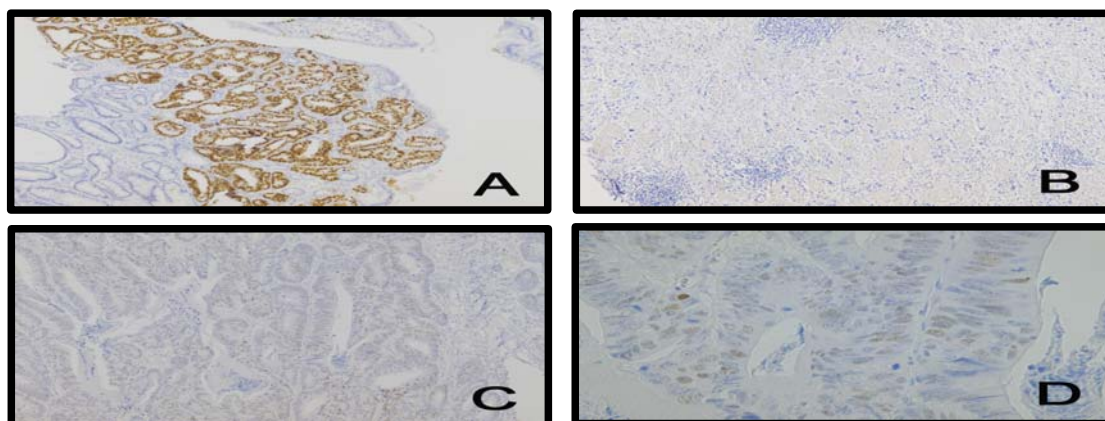


Fig. 2. Immunohistochemical staining for p53 in gastric cancers. The p53 staining showed strong positive in nuclei of well differentiated with intestinal type gastric cancer (A $\times 100$). The p53 staining showed negative in nuclei of poor differentiated with diffuse type gastric cancer (B $\times 100$). The p53 staining showed weak positive in nuclei of gastric cancer (C $\times 100$; D $\times 400$).

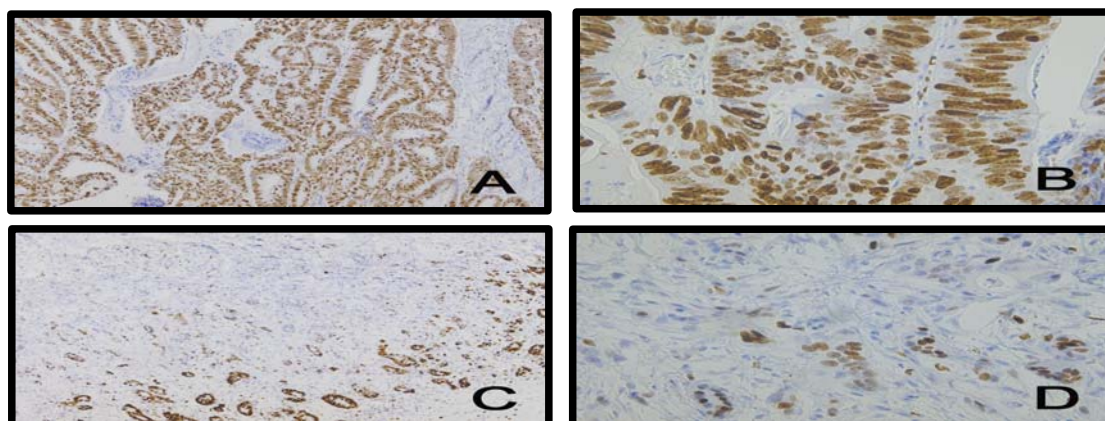


Fig. 3. Immunohistochemical staining for Ki-67 in gastric cancers. The Ki-67 staining showed strong positive in nuclei of well differentiated with intestinal type gastric cancer (A $\times 100$; B $\times 400$). The Ki-67 staining showed weak positive in nuclei of poor differentiated with diffuse type gastric cancer (C $\times 100$; D $\times 400$).

Table 5. Relationships between histopathologic features and Ki-67 staining in gastric cancer

Parameter	Ki-67	
	Positive (%)	Negative (%)
Age		
≤40 Y	1 (3.6)	0 (0)
41-60 Y	9 (32.1)	0 (0)
>60 Y	18 (64.3)	0 (0)
P value	0.006*	
Sex		
Male	18 (64.3)	0 (0)
Female	10 (35.7)	0 (0)
P value	0.336	
HD [†]		
Well	9 (32.1)	0 (0)
Moderate	7 (25.0)	0 (0)
Poorly	12 (42.9)	0 (0)
P value	0.007*	
Depth of invasion**		
EGC	15 (53.6)	0 (0)
AGC	13 (46.4)	0 (0)
P value		
Lauren classification		
Intestinal	16 (57.1)	0 (0)
Diffuse	12 (42.9)	0 (0)
P value	0.005*	
LM [‡]		
Positive	7 (25.0)	0 (0)
Negative	21 (75.0)	0 (0)
P value	0.239	

* : Correlation is significant at the 0.05 level (p<0.05)
 ** : EGC, ealy gastric cancer; AGC, advanced gastric cancer.
 † : Histologic differentiation
 ‡ : Lymph node metastasis

전체적으로 핵에 약하게 발현되는 예도 있었다. 본 연구의 Table 4에서 전체 28예 중 양성으로 염색된 예는 22예였으며, 음성은 2예로 나타났다. p53은 분화도에 따른 통계학적 유의성은 찾지 못하였으나 Fig. 2A, B의 면역조직화학염색에서 보이는 바와 같이, 고분화와 중등도분화에서 p53 발현률이 높았고 장형에서 p53의 발현률이 미만형보다 높게 나타났다. 성별, 나이, 침윤깊이, 그리고 림프절 전이 여부도 통계학적인 유의성은 관찰되지 않았으나 p53의 양성군에서 림프절 전이 빈도가 낮았으며 조기

Table 6. Correlation among expression of Ki-67, p53 and COX-2 in gastric cancer

Parameter	Ki-67		p53		COX-2	
	Positive (%)	Negative (%)	Positive (%)	Negative (%)	Positive (%)	Negative (%)
Ki-67						
Positive	-	-	22(78.6)	6(21.4)	26(92.9)	2(21.4)
Negative	-	-	0	0	0	0
P value	-		0.013*		0.028*	
p53						
Positive	22(78.6)	0	-	-	20(71.4)	2(7.2)
Negative	6(21.4)	0	-	-	6(21.4)	0
P value	0.013*		-		0.548	
COX-2						
Positive	26(92.9)	0	20(71.4)	6(7.2)	-	-
Negative	2(7.1)	0	2(21.4)	0	-	-
P value	0.028*		0.548		-	

* : Correlation is significant at the 0.05 level (p<0.05)

위암의 경우가 많았다.

Ki-67은 핵에 강하게 염색되었고 모든 예에서 양성으로 발현되었다. Table 5에서 보는 바와 같이, 연령이 높아 질수록 발현이 유의하게 높게 나타났고, 저분화보다 고분화에서 유의하게 높게 나타났다(p<0.05). 그리고 미만형보다 장형에서 유의하게 높게 발현되었다(p<0.05). 또한 Table 6에서는 Ki-67의 발현이 증가할수록 p53과 COX-2의 발현도 통계학적으로 유의하게 증가하였음을(p<0.05) 보고하였다. Ki-67의 면역조직화학염색은 Fig. 3에서 보는 바와 같이, 고분화이면서 장형인 암종이 강하게 발현되었다. 성별, 침윤 깊이, 그리고 림프절 전이 여부에 따른 통계학적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

IV. 고 찰

COX-2는 사이토카인, 내독소, 세포 성장인자, 암 촉진자 등의 외부 자극에 의하여 발현된다(Vane, 1994). 최근의 보고에 따르면 *H. pylori* 감염은 직접적으로 위점막 상피세포에서 COX-2의 발현을 증가시키고, COX-2에 의해 생성된 prostaglandin은 염증 반응이나 암화와 같은 질병

발생 기전과 관계가 있다. 본 연구의 Table 2에서 보는 바와 같이 *H. pylori* 양성균이 음성균에 비해 통계학적 유의성은 없으나 그 발현 정도가 높게 나타나서 *H. pylori* 감염이 COX-2 발현에 영향을 미친다는 결과를 얻었다. 따라서 *H. pylori*의 치료가 암 예방에 많은 도움이 될 것으로 사료된다.

위암의 진행 단계와 관계가 있는 COX-2는 정상 위점막이나 만성 위염 또는 만성 위축성 위염에서는 발현되지 않지만 장상피화생에서 발현이 증가하여 이형성과 위선암에서 발현이 증가된다는 보고가 있다(Seoung 등, 2002). 본 실험 결과인 Table 3에서 COX-2가 저분화보다 고분화에서 통계학적으로 유의하게 발현이 높게 나타났고 저분화 특히 인환세포암종에서 현저히 낮게 발현되는 것은 Karnes 등(1998)의 보고와 일치하였다. 암종에서 COX-2 발현이 저하되는 이유에 대한 Karnes 등(1998)이 제시한 가설은 첫 번째로 microsatellite instability(MSI)는 TGF- β II 수용체 유전자의 변이와 잘 동반되어 TGF- β II 수용체의 기능을 마비시키는데, 변이된 TGF- β II 수용체는 COX-2 단백질의 지속적인 유도를 시키지 못하여 COX-2 발현이 떨어졌을 것이라고 하였다. 두 번째로 대장암과 위의 선암종에서는 adenomatous polyposis coli 유전자의 변이가 초래되면 adenomatous polyposis coli 단백질의 절단이 생기고, β -catenin을 조절하는 능력을 상실하여 세포질내에 β -catenin 수치가 증가되어 여러 유전자들이 활성화된다. 이 때 COX-2의 발현도 증가된다고 알려져 있는데 MSI가 있는 위장관 종양에서 adenomatous polyposis coli 유전자의 변이의 빈도가 낮아 COX-2의 발현이 낮았을 거라고 설명하고 있다. 세 번째로 MSI가 있는 종양에서 COX-2 promoter 부위의 과메틸화를 일으켜 유전자 발현이 저하되었을 가능성도 제시하였다.

COX-2는 미만형보다는 장형에서 통계학적으로 유의하게 발현된다(O'Byrne 등, 2000). 이는 대부분의 저분화암종이 미만형에 포함되기 때문에 분화도와 같은 결론을 얻은 것으로 사료된다. 또한 통계학적으로 유의하지는 않으나 조기위암의 경우에 진행성위암보다 그 발현률이 높게 나타나고 COX-2가 발현될 때 전이 정도가 낮게 나타난다. COX-2의 발현이 암화 진행 단계에 관련되므로 환자의 치료를 위한 COX-2 억제제의 적절한 사용이 유용하며 환자의 예후를 예측하는 지표가 될 수 있다고 사료

된다.

정상 p53 유전자는 주로 종양억제유전자로서 세포주기를 억제하고 세포자멸사를 유발한다. 또한 정상 p53 단백질은 다른 유전자의 전사를 억제 또는 활성화시킨다고 보고되고 있다(Ko 등, 1996). p53은 거의 모든 종류의 종양에서 변이가 발견되며 피부, 방광, 대부분의 소화기, 호흡기 종양에서 높은 변이율을 보인다. 위암의 경우 전암병변인 위선종에서도 p53변이와 p53단백의 축적이 보이고 있다. 정상적으로는 세포의 분화와 성장 그리고 세포자멸사에 관여하여 암을 억제하는 기능이 있다고 알려져 있지만 변이가 발생하면 세포자멸사에 장애를 일으키고 비정상적인 세포 증식을 야기하므로 악성 종양에서 세포자멸사를 간접적으로 확인 할 수 있는 지표로서 의미가 있다고 사료된다.

최근 한 연구에서는 정상 p53이 COX-2 발현을 억제한다고 보고하였다(Subbaramaiah 등, 1999). 이후 Leung 등(2001)은 p53의 변이가 있는 위암에서 COX-2 발현이 증가되어 있다고 보고하여 위의 주장을 뒷받침하였다. 본 연구에서 보고된 Table 6의 결과에서는 p53과 COX-2의 상관관계가 나타나지 않았으나 p53과 COX-2가 고분화암종과 장형암종에서 발현이 높게 나타났고 COX-2 발현과 p53의 변이에 상관관계에 관한 많은 보고가 이루어지고 있으므로 향후 더 많은 연구가 필요하다고 본다.

p53단백의 과발현과 위암종의 병리조직학적 소견 및 병기와의 연관성에 대한 결과는 다양하다. *H. pylori* 양성인 군에서 발현률이 높다는 보고가 있었지만 본 연구에서는 Table 2에서 보고된 바와 같이 p53과 *H. pylori*의 연관성이 없었다. *H. pylori*의 감염이 p53 변이에 영향을 미치지 않을 것으로 사료된다.

p53 단백질의 과발현과 종양의 분화도를 비교했을 때 Martin 등(1992)의 결과에서는 관련성이 없었으나 Kitayama 등(1995)의 결과에서는 p53단백이 고분화도 및 중등도 분화에서 저분화도의 위암에서 보다 높게 발현되었다. Lauren(1965)의 분류에 의해서 Martin 등(1992)도 p53 단백질이 장형에서 미만형보다 좀 더 많이 나타났다고 보고하고 있다. 본 연구의 Table 4에서 보고된 바와 같이 p53은 분화도에 따른 통계학적 유의성은 없으나 고분화와 중등도 분화에서 발현률이 높았고 장형위암에서의 발현률이 미만형보다 높게 나타나 장형 위암의 발생에 p53

의 과발현이 중요한 역할을 한다는 보고와 일치하였다. 그리고 p53의 양성군은 림프절 전이 빈도가 낮았으며 조기위암의 경우가 많았다. 이는 Kakeji 등(1993)과 Kitayama 등(1995)의 결과와 일치하였으며 p53 유전자의 돌연변이가 중앙 발생의 초기에 일어남을 시사하고 있다. p53에 관한 본 연구의 결과는 통계학적인 유의성이 없어 위암환자의 예후와 관련된 의미를 갖기 위해서는 다양한 범주의 많은 재료에 대한 연구가 필요하리라 사료된다.

악성 종양의 증식정도는 종양의 전이 능력, 재발 및 생존율과 밀접한 관련이 있다. Ki-67은 휴지기 세포를 제외한 증식하는 세포들에서만 발현되는 핵항원을 인식하는 것으로 암종의 세포증식능을 측정하는데 널리 이용되고 있다. Table 5에서 Ki-67은 연령이 높아짐에 따라, 고분화일수록 통계학적으로 유의하게 높게 발현되었으며 미만형보다 장형에서 통계학적으로 유의하게 높게 발현되었다. 또한 Table 6에서는 Ki-67의 발현이 증가할수록 COX-2와 p53의 발현도 통계학적으로 유의하게 증가하였다. 따라서 COX-2의 과발현과 p53의 변이가 과다한 세포의 증식을 유도함을 알 수 있었다. Yonemura 등(1991)은 Ki-67 표지지수가 혈관 침범 및 림프관 침윤이 있는 군과 림프절 전이가 있는 군에서 상대적으로 높고 Ki-67 표지 지수가 높은 군이 예후가 좋지 않음을 보고하였는데 본 연구에서는 림프절 전이와의 상관성은 찾을 수 없어 Ki-67 표지지수로써 림프절 전이와 연관된 예후를 예측하기 힘들 것으로 사료된다.

결론적으로 본 연구에서 *H. pylori*, COX-2, p53 및 Ki-67이 위암의 발생과 진행과정에 작용한다는 결론을 도출하였다. 따라서 앞으로 예후인자로서 이용하기 위해 향후 넓은 범주를 대상으로 한 연구가 필요하다고 사료된다.

참 고 문 헌

- Asaka M, Takeda H, Sugiyama T, Kato M. What role does *Helicobacter pylori* play in gastric cancer? *Gastroenterology* 113:S56-60, 1997.
- Barker DJP, Coggon D, Osmond C, Wickham C. Poor housing in childhood and high rates of stomach cancer in England and Wales. *Br J Cancer* 61:575-578, 1990.
- Eberhart CE, Dubois RN. Eicosanoids and the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 109:285-301, 1995.
- Ernst P. Review article: the role of inflammation in the pathogenesis of gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 13(suppl 1):13S-18S, 1999.
- Hernandez-Boussard T, Rodriguez-Tome P, Montesano R. IARC p53 mutation database: a relational database to compile and analyze p53 mutations in human tumors and cell lines. International Agency for Research on Cancer. *Hum Mutat* 14:1-8, 1999.
- Hoel DG, Davis DL, Miller AB, Sondik EJ, Swerdlow AJ. Trends in cancer mortality in 15 industrialized countries. 1969-1986. *J Natl Cancer Inst* 84:313-320, 1992.
- Kakeji Y, Korenaga D, Tsujitani S. Gastric cancer with p53 overexpression has high potential for metastasis to lymph nodes. *Br J Cancer* 67:589-593, 1993.
- Karnes WE Jr, Shattuck-Brandt R, Burgart LJ, DuBois RN, Tester DJ, Cunningham JM, Kim CY, McDonnell SK, Schaid DJ, Thibodeau SN. Reduced COX-2 protein in colorectal cancer with defective mismatch repair. *Cancer Res* 58:5473-5477, 1998.
- Kargman S, Charleson S, Cartwright M. Characterization of Prostaglandin G/H Synthase 1 and 2 in rat, dog, monkey, and human gastrointestinal tracts. *Gastroenterol* 111:445-454, 1996.
- Kitayama Y, Sugimura H, Tanaka M, Nakamura S, Kino I. Expression of p53 and flow cytometric DNA analysis of isolated neoplastic glands of the stomach: an application of the gland isolation method. *Virchows Arch* 426:557-562, 1995.
- Kleibeuker JH, van der Woude CJ, Jansen PL, Moshage H. Chronic inflammation, apoptosis and (pre-) malignant lesions in the gastro-intestinal tract. *Apoptosis* 9:123-130, 2004.
- Ko LJ, Prives C. p53: puzzle and paradigm. *Genes*

- Dev* 10:1054-1072, 1996.
13. Konturek PC, Pierzchalski P, Konturek SJ. *Helicobacter pylori* induces apoptosis in gastric mucosa through an upregulation of expression in humans. *Scand J Gastroenterol* 34:265-271, 1999.
 14. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma. Diffuse and so-called intestinal type carcinoma. *Acta Pathol Microbiol Scand* 64:31-49, 1965.
 15. Lane DP. Cancer: p53, guardian of the genome. *Nature* 358:15-16, 1992.
 16. Leung WK, To KF, Ng YP. Association between cyclooxygenase-2 overexpression and missense p53 mutations in gastric cancer. *Br J Cancer* 84:335-339, 2001.
 17. Lish H, Tatsuta M, Baba M, Mikuni T, Yamamoto R, Iseki K, Yano H, Uehara H, Nakaizumi A. Enhancement by monochloramine of the development of gastric cancers in rats: a possible mechanism of *Helicobacter pylori* associated gastric carcinogenesis. *J Gastroenterology* 32:435-441, 1997.
 18. Martin HM, Filipe MI, Moris RW, Lane DP, Silvestre F. p53 expression and prognosis in gastric carcinoma. *Int J Cancer* 50:859-862, 1992.
 19. Moss SF, Calam J, Agarwal B, Wang S, Holt PR. Induction of gastric epithelial apoptosis by *Helicobacter pylori*. *Gut* 38:498-501, 1996.
 20. Murray CJL, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020-global burden of disease study. *Lancet* 349:1498-1504, 1997.
 21. O'Byrne KJ, Dalglish AG, Browning MJ, Steward WP, Harris AL. The relationship between angiogenesis and the immune response in carcinogenesis and the progression of malignant disease. *Eur J Cancer* 36:151-169, 2000.
 22. Romano M, Ricci V, Memoli A, Tuccillo C, Di Popolo A, Sommi P, Acquaviva AM, Del Vecchio Blanco C, Bruni CB, Zarrilli R. *Helicobacter pylori* up-regulates cyclooxygenase-2 mRNA expression and prostaglandin E2 synthesis in MKN28 gastric mucosal cells in vitro. *J Biol Chem* 273:28560-28563, 1998.
 23. Romiti A, Moretti A, Vecchione A. Analysis of p53 expression in precancerous and malignant gastric mucosa. *Oncol Rep* 5:109-113, 1998.
 24. Seoung WC, Jin HS, Hyung SS, Young EP. Expression of cyclooxygenase-2 protein in gastric carcinogenesis. *Cancer Res Treat* 34:252-257, 2002.
 25. Shin HR, Ahn YO, Bae JM, Shin MH, Lee DH, Lee CW, Ohrr H, Ahn DH, Ferlay J, Parkin DM, Oh DK, Park JG. Cancer Incidence in Korea. *Cancer Res Treat* 34:405-408, 2002.
 26. Stoehlmacher J, Lenz HJ. Cyclooxygenase-2 inhibitors in colorectal cancer. *Semin Oncol* 30:10-16, 2003.
 27. Subbaramaiah K, Altorki N, Chung WJ, Mestre JR, Sampat A, Dannenberg AJ. Inhibition of cyclooxygenase-2 gene expression by p53. *J Biol Chem* 274:10911-10915, 1999.
 28. Tatsuguchi A, Matsui K, Shinji Y, Gudis K, Tsukui T, Kishida T, Fukuda Y, Sugisaki Y, Tokunaga A, Tajiri T, Sakamoto C. Cyclooxygenase -2 expression correlates with angiogenesis and apoptosis in gastric cancer tissue. *Hum Pathol* 35:488-495, 2004.
 29. Vane J. Towards a better aspirin. *Nature* 367:215-216, 1994.
 30. Yonemura Y, Kimura H, Ooyama S. Immunohistochemical staining of proliferating cells in endoscopically biopsied tissues of gastric carcinomas with monoclonal antibody Ki-67. *Oncology* 48:162-165, 1991.
 31. 민상운, 손영해, 박창환. 위암 및 전구병변에서 Cyclooxygenase-2와 p53의 발현. *대한소화기학회지* 41:268-276, 2003.