

결장직장암에서의 Cyclooxygenase-2와 Inducible Nitric Oxide Synthase의 발현

인제대학교 상계백병원 외과학교실, ¹병리학교실, ²예방의학교실

양근호 · 배병노 · 김정연¹ · 김기환 · 한세환 · 김홍주 · 김영덕 · 김홍용 · 김성준²

Expression of Cyclooxygenase-2 and Inducible Nitric Oxide Synthase in Colorectal Cancer

Keun-Ho Yang, M.D., Byung-Noe Bae, M.D., Jung-Yeon Kim, M.D.¹, Ki-Hwan Kim, M.D., Sehwan Han, M.D., Hong-Joo Kim, M.D., Young-Duck Kim, M.D., Hong-Yong Kim, M.D. Sung-Jun Kim, M.D.²

Departments of Surgery, ¹Pathology and ²Preventive Medicine, Sanggye Paik Hospital, Inje University

Purpose: Recently, it has been recognized that both cyclooxygenase-2 (COX-2) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) produce important endogeneous factors of human tumor progression. The aims of this study is to investigate the correlation between the expression of COX-2 and iNOS and to assess the clinicopathological significance of COX-2 and iNOS expression in patients with colorectal cancer.

Methods: One hundred and five patients, who underwent curative resection of colorectal cancer from 1994 to 1997 were analyzed retrospectively. The monoclonal antibody to the COX-2 and iNOS were used for the immunohistochemical analysis.

Results: In 105 patients the COX-2 and iNOS positive rate were 86.7% and 69.5% respectively. There was significant correlation between COX-2 and iNOS expression ($r=0.378$, $P<0.01$), that is, the lesions which expressed high level of COX-2 also expressed iNOS highly. The proliferation index (Ki-67 labeling index) was correlated with iNOS ($P=0.013$), and the microscopic differentiation with COX-2 ($P=0.004$). However, the expression of COX-2 and iNOS proteins did not correlate with any other clinicopathological parameters including patient survival.

Conclusions: Although the pattern of positive expression was similar in both enzymes, the expression of both enzymes was not related to prognosis in patients with colorectal cancer. But COX-2 and iNOS seems to have a role not only in carcinogenesis but also tumor cells proliferation.

To evaluate the exact role of these enzymes, further studies of the apoptosis and cancer metastasis and of links between the cancer related factors of COX-2 and iNOS are warranted. *J Korean Soc Coloproctol* 2003;19:144-151

Key Words: Colorectal cancer, Cyclooxygenase-2, Inducible nitric oxide synthase

결장직장암, Cyclooxygenase-2, Inducible nitric oxide synthase

서 론

결장직장암은 현재 국내 암 사망률 4위에 해당하는 질환으로 식습관의 서구화로 인해 그 발생빈도가 점차 증가하는 추세이다. 결장직장암의 치료는 여타 소화기계 암과 마찬가지로 수술적 절제가 근간을 이루지만, 조기 암인 경우 증상이 없는 경우가 대부분이며 진행성 암인 경우 원격 전이의 빈도가 높아 예후가 좋지 않다. 결장직장암은 여러 가지 환경적 요인과 유전자 및 내인성 인자들에 의해 유발된다고 알려져 있으며, 최근 들어 종양 세포의 성장과 침습 및 전이에 직접적인 영향을 미치는 내인성 인자들에 대한 관심이 높아지고 있다. 이러한 내인성 인자들에 대한 확인은 종양의 발생과 성장에 대한 이해뿐만 아니라 그 과정을 억제할 수 있는 예방 방법 및 선별검사의 개발과 조기 치료를 통한 예후의 개선에 도움을 줄 것이다.

최근 들어 cyclooxygenase-2 (COX-2)와 inducible nitric oxide synthase (iNOS)가 여러 암의 진행 과정에서 중요한 내인성 인자를 생성하는 것으로 알려져 관심을 끌고 있다. COX는 arachidonic acid를 prostanoids (prostaglandins과 thromboxanes)으로 변환시키는 속도제한 효소(rate-limiting enzyme)로 현재 두 가지 아형이 확인되고 있다.¹ COX-1은 대부분의 정상적인 조직에서 발현되고 인체의 항상성을 유지하는 역할을 수행하며, 반면 COX-2는 어떤 자극(내독소, 사이토카인, 종양촉

책임저자: 김영덕, 서울시 노원구 상계 7동 761-1
상계백병원 외과학교실(우편번호: 137-707)
Tel: 02-950-1017, Fax: 02-933-9389
E-mail: ileus@freechal.com

2002년 대한대장항문학회 추계학술대회 포스터 발표되었음.

진자)에 의하여 발현이 유발되고 주로 염증이 있는 곳에서 발견되며 세포의 자연사(apoptosis) 억제 및 종양의 증식 과정에 기여하는 것으로 생각되고 있다.²

COX 단백질과 마찬가지로 NOS (nitric oxide synthase)도 대부분의 조직에서 정상적으로 발현되는 constitutive NOS (cNOS)와 이차적으로 자극에 의해 유발되는 inducible NOS가 존재한다.³ iNOS에 의해 생성된 NO 및 그 대사산물은 초기 발암과정에 영향을 미치는 것으로 생각되고 있으며 암종의 성장과 진행 및 전이에도 기여하는 인자일 것으로 여겨지고 있으나 일부 상반된 결과도 보고되고 있어 논란의 여지가 있다.^{4,6}

결장직장암에서 COX-2와 iNOS는 각각 발현이 증가되는 것으로 보고되고 있다.^{7,9} 또한 최근의 암과 관련된 연구에서 COX-2와 iNOS의 발현 양상 사이에 양의 상관관계가 있다는 보고가 늘고 있으며, 각각의 효소들이 예후에 미치는 영향에 대해서는 확실히 밝혀진 바가 없다.^{5,10-12} 이에 저자들은 본 연구를 통하여 결장직장암 조직에서 COX-2와 iNOS의 발현 사이에 이미 보고된 바와 같은 의미 있는 상관관계가 있는지 알아보고자 하였으며, 이들 효소와 임상 병리적 인자와의 상관관계 및 생존율에 미치는 영향을 조사하여 이들 효소의 발현이 결장직장암에서 가지는 임상적 의미를 찾아보려 하였다.

방 법

1) 연구 대상

1994년 1월부터 1997년 10월까지 인제대학교 부속

상계백병원에서 결장직장암으로 수술 받은 환자 중 Dukes stage B와 C이면서 근치적 절제술을 시행 후 추적 검사를 시행하였던 105예를 대상으로 하였다. 각 예를 남녀, 성별, 연령, 종양의 크기, 조직학적 분화도, Dukes stage, 림프절 전이, 혈관 침윤, 신경 침윤 등의 임상 병리적 인자와 수술 후 5년 생존 집단과 사망 집단별로 COX-2 및 iNOS 발현의 양성 빈도를 분류하였다.

2) 연구 방법

(1) 광학현미경적 관찰: 절제된 조직은 먼저 육안 검사를 거쳐 조직을 펼쳐 놓은 후 코르크판에 핀으로 고정시켜 10% 중성 포르말린 통에 넣어 24시간 고정하였다. 고정된 조직에서 종양의 크기를 측정하고, 대표적인 부위를 자른 후 탈수시켜 통상적인 방법으로 파라핀에 포매하였다. 포매된 조직을 4μm 두께로 절편을 만들어 hematoxylin-eosin (H&E) 염색을 실시하였으며 조직학적 유형, 종양 침습 깊이, 림프절 전이 및 혈관, 신경 침습유무 등에 대하여 관찰하였다.

(2) 면역조직학적 염색: 각각의 블록을 Paraffin sectioning aid system (adhesive coated slide, adhesive tape, and UV lamp: Instrumedics Inc., NJ., USA)을 이용하여 4μm로 두께로 박절하여 슬라이드에 부착하고 xylene으로 탈파라핀하였다. 이후 70% 알코올까지 점차로 낮은 농도의 알코올로 함수 과정을 거친 뒤 10 mM citrate buffer (PH 6.0) 용액에 담구어 microwave 처리를 하였으며, phosphate buffered saline (PBS)에 세척하고, 3% 과산화수소수로 10분간 처리하여 내인성 과산화 효소의 활성을 저지시킨 후, 실온에서 차단 항체와 30

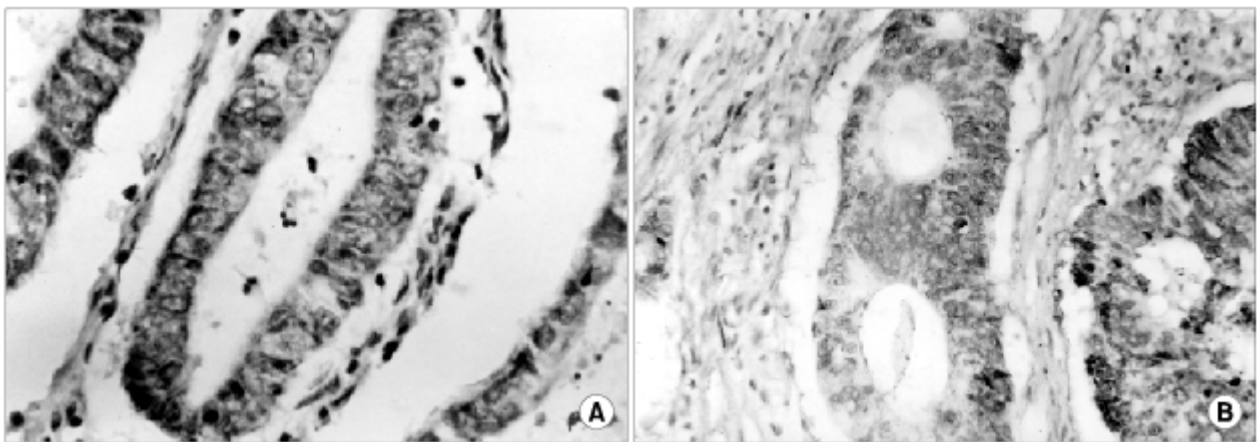


Fig. 1. Tissue section from colorectal adenocarcinoma showing labeling with the antibody to (A) COX-2 and (B) iNOS. Immunostaining for COX-2 and iNOS show intensive cytoplasmic staining (brown color) of the tumor cells (immunohistochemical stain, ×400).

분간 반응시켜 비특이적 항원을 차단하였다. 그 후 COX-2 단클론 항체(Cayman chemical, Ann Arbor, MI, USA, 1 : 1000) 및 iNOS 단클론 항체(Transduction laboratories, Lexington, KY, USA, 1 : 50)를 각각 이용하여 실온에서 1시간 반응시킨 후 PBS로 세 차례 세척하고 이차 항체(universal biotinylated secondary immunoglobulin antibody)로 반응시켰다. Streptavidin, 3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride로 발색하였고 Harris hematoxylin으로 대조 염색한 후 봉입하여 관찰하였다.

(3) 면역조직학적 염색 결과와 판정: 양성 세포에 대한 판정은 COX-2 및 iNOS 모두 세포질에 갈색 파립 상으로 염색된 경우를 양성으로 하였다(Fig. 1). 각각의 증례를 광학 현미경 400배 시야에서 관찰하여 종양세포의 수를 세고 이들 중 양성으로 판정되는 세포의 수를 세어 백분율로 나타내었으며 이들 중 10% 이상에서 염색되는 경우를 발현 양성으로 판정하였다.

(4) 통계학적 처리: 통계적 분석은 Social Science Program 10.0 version (SPSS Inc., Chicago, IL)을 이용하였다. Chi-square test, Fisher's exact test 등을 시행하였고, COX-2와 iNOS 발현 간의 상관관계는 Pearson test를 사용하였다. 생존 분석에서는 환자의 생존곡선은

Kaplan-Meier test로, 통계검증은 Cox proportional hazard model을 사용하였으며 P값이 0.05 이하인 경우 통계적 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1) 대상 환자의 특성

대상 환자 105명 중 남자는 64명, 여자는 41명이었으며 20세에서 86세까지 분포하여 평균연령은 60.62세였다. 암의 크기는 0.6 cm에서 11 cm까지 분포하였고 평균 크기는 5.48 cm이었다. 조직학적 분화도는 고분화암이 5예, 중등도 분화암이 87예, 저분화암이 6예, mucinous 형의 분화암이 7예였다. Dukes 병기는 stage B가 53예, stage C가 52예였으며 술 후 5년 동안 결장 직장암으로 사망한 사람은 31명이었다(Table 1). 평균 추적 기간은 47.5개월이었으며(1~110.9개월), 추적 관찰에 실패하였던 11예를 제외한 모든 예에서 5-FU를 포함한 전신 화학 요법이 시행되었다.

2) COX-2 발현과 iNOS 발현 간의 상관관계

대상 환자 105명에서 COX-2의 발현율은 86.7%였으며 iNOS의 발현율은 69.5%였다. COX-2와 iNOS 발현 상에는 유의한 양의 상관관계를 관찰할 수 있었다. 즉 COX-2의 발현이 높은 조직에서는 iNOS도 높게 발현하고 있었다(Fig. 2)($r=0.378, P<0.01$).

3) 임상 병리적 인자들과 COX-2, iNOS와의 상관관계

COX-2는 조직학적 분화도와 유의한 상관관계가 있

Table 1. Baseline variables of patients

Number of patients	105
Sex	
Male	64
Female	41
Age	
< 60	43
≥ 61	62
Tumor size	
< 5.5 cm	57
≥ 5.5 cm	48
Histologic type	
Well	5
Moderate	87
Poor	6
Mucinous	7
Dukes stage	
Stage B	53
Stage C	52
5 year follow up	
Survival	53
Censored	21
Expired	31

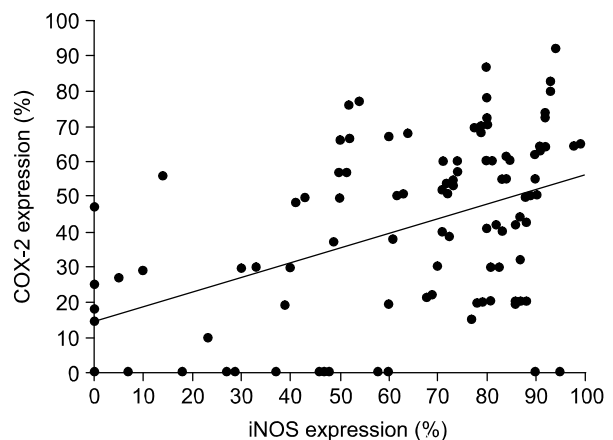


Fig. 2. Correlation between iNOS and COX-2 expression in colorectal cancer tissues. There was significant positive relationship between both expression ($r=0.378, P<0.01$) ($COX-2 = 0.337 \times iNOS + 15.337$).

Table 2. The relationship between COX-2 or iNOS and clinico-pathologic data

Variables	COX-2		P-value	iNOS		P-value
	(-)/Total (%)	(+)/Total (%)		(-)/Total (%)	(+)/Total (%)	
Age (yr)			NS*			NS*
< 60	8/43 (18.6)	35/43 (81.4)		15/43 (34.9)	28/43 (65.1)	
> 61	6/62 (9.7)	56/62 (90.3)		17/62 (27.4)	45/62 (72.6)	
Location			NS*			NS*
Right	3/22 (13.6)	19/22 (86.3)		6/22 (27.2)	16/22 (72.7)	
Left	3/43 (6.9)	40/43 (93.0)		11/43 (25.6)	32/43 (74.4)	
Rectum	8/40 (20.0)	32/40 (80.0)		15/40 (37.5)	25/40 (62.5)	
CEA (ng/ml)			NS*			NS*
≤ 5.0	7/56 (12.5)	49/56 (87.5)		17/56 (30.4)	39/56 (69.6)	
> 5.0	6/47 (12.8)	41/47 (87.2)		14/47 (29.8)	33/47 (70.2)	
Tumor size (cm)			NS*			NS*
< 5.5	7/57 (12.3)	50/57 (87.7)		13/57 (22.8)	44/57 (77.2)	
≥ 5.5	7/48 (14.6)	41/48 (85.4)		19/48 (39.6)	29/48 (60.4)	
Histologic type			0.004			NS*
Well	0/5 (00.0)	5/5 (100.0)		1/5 (20.0)	4/5 (80.0)	
Moderate	9/87 (10.3)	78/87 (89.7)		25/87 (28.7)	62/87 (71.3)	
Poor	1/6 (16.7)	5/6 (83.3)		2/6 (33.3)	4/6 (66.7)	
Mucinous	4/7 (57.1)	3/7 (42.9)		4/7 (57.1)	3/7 (42.9)	
Dukes stage			NS*			NS*
Stage B	8/53 (15.1)	45/53 (84.9)		17/53 (32.1)	36/53 (67.9)	
Stage C	6/52 (13.5)	46/52 (86.8)		15/52 (28.8)	37/52 (71.2)	
Angio-invasion			NS*			NS*
Negative	20/84 (23.8)	64/84 (76.2)		25/84 (29.8)	59/84 (70.2)	
Positive	6/21 (28.6)	15/21 (71.4)		7/21 (33.3)	14/21 (66.7)	
Neural invasion			NS*			NS*
Negative	12/87 (13.8)	75/87 (86.2)		29/87 (33.3)	58/87 (66.7)	
Positive	2/18 (11.1)	16/18 (88.9)		3/18 (16.7)	15/18 (83.3)	
Ki-67 labeling index			0.076			0.029
< 10%	6/31 (19.4)	25/31 (80.6)		14/31 (45.2)	17/31 (54.8)	
≥ 10%	3/51 (5.9)	48/51 (94.1)		11/51 (21.6)	40/51 (78.4)	

*NS = not significant.

었다(P=0.004). 세포 증식 지표인 Ki-67과는 지수가 높은 군에서 COX-2 발현이 증가된 경향이 있었으나 통계적 유의성은 없었다(P=0.076). iNOS는 Ki-67과 유의한 상관관계가 있었다(Table 2)(P=0.013).

4) 환자 생존율과 여러 임상 병리적 인자 및 COX-2, iNOS와의 상관관계

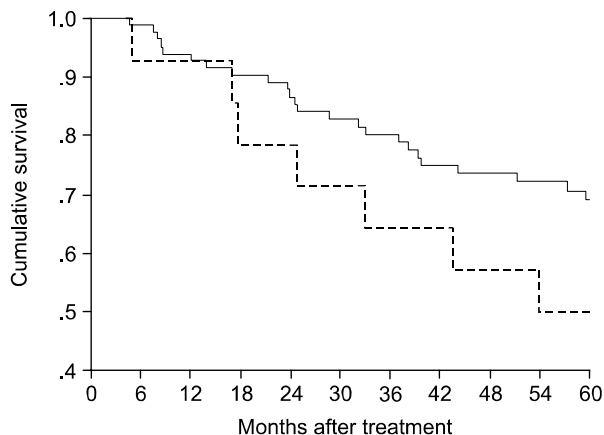
생존율에 대한 분석 결과 COX-2의 발현에 따른 5년 생존율은 양성인 경우 69.2%, 음성인 경우 50.0%로 차이가 없었고, iNOS의 경우에도 각각 68.9%, 60.1%로 역시 생존율에 미치는 영향은 없었다(Fig. 3). 다변량

분석을 시행한 결과 림프절 전이(P=0.003), 혈관 침윤(P=0.05), 신경 침윤(P=0.001) 등이 생존율에 영향을 미치는 것으로 나타났다(Table 3).

고 찰

본 연구를 통해 저자들은 결장직장암에서 COX-2와 iNOS의 발현 증가를 관찰하였다. 이런 결과는 다른 여러 상피 기원 암종을 대상으로 한 이전의 연구 결과들과 일치하며 이들 효소의 유발과 발암 과정이 서로 연관되어 있음을 시사한다.^{13,14} 더욱이 이들 효소의 동시

A COX-2



B iNOS

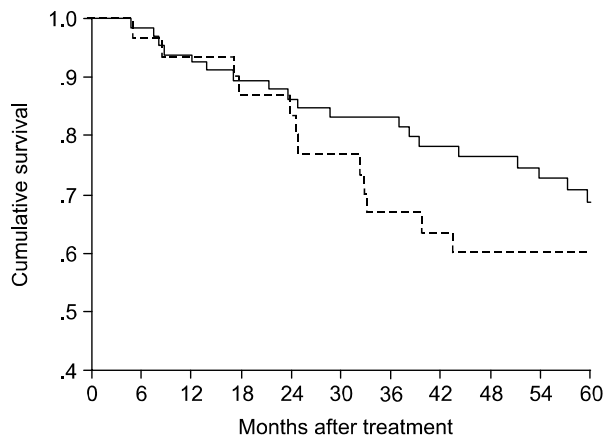


Fig. 3. Kaplan-Meier survival estimated by the expression status of (A) COX-2 and (B) iNOS. Survival was not different between each group (A: P=0.560, B: P=0.752). (—) positive, (·····) negative.

Table 3. Stepwise survival multivariate analysis for various potential prognostic factors of patients with colorectal cancer

Covariate	P-value	Relative hazard	CI* (95%)
Neural invasion	0.001	44.512	4.615~429.317
Lymph node meta	0.003	30.937	3.094~309.324
Angio-invasion	0.050	1.131	1.017~2.004
Age	NS [†]		
Sex	NS [†]		
Differentiation	NS [†]		
Location	NS [†]		
Size	NS [†]		
Ki-67 labeling index	NS [†]		
COX-2	NS [†]		
iNOS	NS [†]		

*CI = confidence interval; [†] NS = not significant.

발현 증가 양상은 두 효소 사이에 어떠한 인과관계가 존재할 가능성도 생각해 볼 수 있다.

COX와 NOS의 발현 경로에는 여러 유사점이 존재한다. 두 효소에는 모두 상시적으로 정상적인 조직에서 발현되는 본형(constitutive form; COX-1, cNOS)과 정상적으로는 매우 미약하거나 발현이 없는 상태에서 어떠한 자극에 의해 유발되는 유도형(inducible form; COX-2, iNOS)이 존재하는데 실제 lipopolysaccharide (LPS)나 interleukin-1, tumor necrosis factor, interferon- α 같은 cytokine들에 의한 COX-2와 iNOS의 동시 발현이

여러 세포들에서 관찰되고 있다.^{15,16}

지금까지의 연구 결과들에 의하면 NOS에 의해 생성된 NO는 COX-2의 효소 발현과 활성도를 조절한다고 한다.^{10,17,18} 효소 수준의 교차반응에 의한 상호작용의 기전은 정확히 알려진 바가 없으며 단지 몇 가지 가설이 제시되고 있는데 첫 번째로는 NO가 guanylyl cyclase를 활성화시키는 것과 같은 기전으로 COX-2의 heme group에 부착하여 COX-2를 활성화시킨다는 주장인데 실제로 COX-2에서 가장 흔하게 존재하는 heme은 ferrous heme으로 이는 NO와의 친화력이 낮아 이 주장은 설득력이 약하다.¹⁰ 두 번째로는 NO가 유리기(free radical)를 생성하여 COX-2의 자가불활성화(autoinactivation)를 억제함으로써 COX-2의 반감기를 연장시킨다는 것이고,¹⁹ 세 번째는 NO와 superoxide가 반응하여 생성된 peroxynitrite가 지방질의 peroxidation을 유발하고 이에 따라 세포막에서 arachidonic acid가 유리되어 COX-2를 활성화시킨다는 것이다.²⁰ 이러한 연구 결과와 더불어 최근의 연구 결과는 NO에 의한 COX-2 유전자의 발현이 전사 단계(transcriptional level)나 후전사 단계(post-transcriptional level)에서 조절된다고 보고하고 있다.^{17,21} 본 연구에서는 비록 COX-2와 iNOS의 상호 인과관계 여부나 기전을 밝히는 목적을 가지지는 않았지만 결장직장암에서의 COX-2와 iNOS의 발현 양상에 있어 의미 있는 양의 상관관계가 있음을 알 수 있었으며, 이전의 여러 병리적 상황이나 다른 암종에서의 연구 결과들과 일치한다.

COX-2와 iNOS가 암 진행 과정에 기여하는 정확한

역할에 대해서는 다소의 논란이 있으나 대다수의 논문들이 두 효소 모두 발암 과정의 초기 및 증식과 전이에 관여할 것이라고 보고하고 있다. COX-2의 경우 대장에서 p53 유전자의 돌연변이를 유발하는 malondialdehyde와 같은 직접적인 mutagen을 생성한다고 하며 세포사멸의 억제를 유발하여 손상된 유전자를 가진 세포의 증식을 지속시키며, 대사물인 PGE₂에 의해 세포에 대한 국소적인 면역력을 억제시켜 면역감시를 벗어나게 한다고 한다.^{22,23} 또한 또 다른 대사물인 thromboxane이 혈소판과 암세포와의 반응을 유도하고 세포의 기질을 강력히 파괴시키는 metalloproteinase-2를 활성화시켜 전이를 유발하는 것으로 보고되고 있다.^{24,25} iNOS에 의해 생성되는 NO 및 그와 연관된 peroxynitrate와 nitroamines은 발암물질로 이미 알려져 있으며 직접적으로 DNA에 작용하여 DNA손상을 유발하고 정상적인 복구를 방해한다.²⁶ NO는 신생혈관의 형성에도 관여하는 것으로 알려져 있으며 이를 통해 종양의 성장에 따른 혈류 유지에 중요한 작용을 하며 또한 과도한 NO의 생산이 항종양 림프구에 영향을 미쳐 암세포에 대한 면역반응 저하를 일으켜 암의 성장 및 전이에도 관여하는 것으로 보인다.²⁷

그러나 NO에 대해서는 암 진행과정에서 종양억제 작용을 갖는다는 상반된 주장과 함께 명확한 역할에 대한 논란이 있는데, NO는 대식세포에 의한 세포독성의 매개체임이 알려져 있으며, 종양세포의 DNA합성이나 mitochondria의 호흡기능을 억제하여 tumoricidal 기능을 하고, 또한 혈소판 응집을 방해하여 전이를 어렵게 한다고 하였다.²⁸ Moomhala 등⁴은 종양세포에서 iNOS의 발현은 관찰할 수 없었고 오히려 cNOS가 34%로 현저히 감소함을 관찰하였으며, 결론적으로 NO의 감소가 종양 유발에 기여한다고 하였다. Ambs 등⁶은 대장 선종에서 거의 60%의 iNOS가 발현되고 대장암에서는 20~25%가 발현되며 병기가 진행할수록 발현이 감소하는 것을 관찰하여 iNOS에 의한 NO의 과도한 생산은 종양의 초기 발암 과정에만 영향을 미친다고 주장하였고, Kong 등¹²은 면역조직화학염색 결과에서 iNOS의 발현 여부가 세포의 자연사(apoptosis)와 상관관계가 있다고 보고하였으며, Jenkins 등²⁷은 NO가 고농도에서는 종양억제 작용이 있고 저농도에서는 종양의 성장을 촉진한다고 하여 농도에 따라 상반된 작용을 한다고 보고하였다. 이는 cNOS가 단시간 동안 매우 적은 농도의 NO를 생산하는 반면 iNOS는 장시간에 걸쳐 많은 양의 NO를 생산한다는 기존의 결과와 결부지어 생각할 때 매우 흥미로운 논점들이라고 아

니할 수 없다.¹²

본 연구에서는 COX-2와 iNOS가 전체 검체조직들 중에서 각각 86.7%, 69.5%로 발현되었다. COX-2는 여러 논문에서 암조직에서의 발현이 90%에 가까운 것으로 보고되고 있으며, 본 연구에서는 조직학적 분화도와 관련이 있는 것으로 나타났다. 표본에서는 고분화 암군과 mucinous형의 분화암군의 대상수가 매우 적고, 양성 병변에서의 발현 여부가 비교되지 않아 결론을 내리기에 신중해야 할 것으로 생각되지만, 암종의 진행이 고분화암을 거쳐 중등도, 저분화암으로 일방적인 단계로 진행되는 것이 아니므로 COX-2가 암세포의 발생 초기의 세포 분화도 결정에 영향을 미치는 것으로 판단할 수 있었다. 또한, 비록 통계적 유의성은 없었지만 세포 증식 지표인 Ki-67에도 지수가 높을수록 발현이 증가하는 경향을 나타내어 COX-2가 암의 발생과 성장에 기여한다는 기존의 연구 결과와 크게 벗어나지 않는다고 생각하였다. iNOS의 경우 논문마다 양성 발현의 정도가 조금씩 다르다. Ambs 등⁶과 Brennan 등²⁹은 각각 20%에서 60% 정도의 발현 빈도를 보고하였는데, Ambs 등⁶은 iNOS의 발현을 Western blot 방법으로 확인하였고 Brennan 등²⁹은 양성 판정 기준을 25% 이상으로 설정하였다. 저자와 같이 10% 이상의 양성 판정 기준을 정하고 면역조직화학염색을 시행한 연구들에서는 대부분 65% 이상의 높은 발현 빈도를 보여 비슷한 결과임을 확인할 수 있었으며, 도 등³⁰은 iNOS의 발현을 관찰하는 방법에 따라서 발현 빈도 차이가 있을 수 있음을 보고한 바 있다. iNOS는 Ki-67과 상관관계가 있는 것으로 나타났으나 Dukes stage를 포함한 다른 인자와의 상관관계는 나타나지 않았다. 이 결과만으로는 iNOS의 암 진행에 따른 명확한 역할을 파악하기에 불충분하지만 세포 자체의 증식에는 영향을 미치는 것으로 생각되며, 결과적으로, stage에 따른 발현 양상의 차이가 나타나지 않는 것으로 미루어 iNOS가 암의 진행에 기여하는지 여부는 단언할 수 없었으나, 또한 암의 진행을 억제하는 역할을 할 것이라는 일부 논문들의 주장도 완전히 배격할 수는 없을 것으로 판단하였다.

두 효소 모두 CEA나 혈관 침습, 신경 침습 및 임파선 전이 유무와도 관련이 없는 것으로 나타나 다수의 논문에서 보고되고 있는 것처럼 대부분의 결장직장암 예후 인자와의 관련성을 찾아내지 못하였으며, 암 발생 후 암 세포의 성장 자체를 제외한 침습 및 전이에 관한 이들 효소의 명확한 역할과, COX-2와 iNOS의 발현 여부가 생존에 미치는 영향 역시 확인할 수 없었다.

이들 효소들은 결장직장암의 발생과 암 세포의 성장에는 관여하지만, 더 이상의 암 진행에 기여하는 역할과 예후 인자로서 가질 수 있는 의미는 불충분하다고 판단되며, 앞으로도 이와 관련된 연구가 지속적으로 수행되어야 할 것으로 생각된다.

결 론

본 연구 결과 저자들은 다음과 같은 결론을 내렸다. 결장직장암에서 COX-2 및 iNOS는 높은 발현을 보였으며 발현 양상 간에 의미 있는 양의 상관관계를 보였다. COX-2와 iNOS의 발현과 대부분의 결장직장암 예후 인자와의 상관관계 및 생존율에 미치는 영향은 관찰할 수 없었으나 조직학적 분화도나 증식 지수와의 상관관계를 검토해 볼 때 암의 초기 발암 과정뿐만 아니라 성장에도 관여할 것으로 예측된다. 결장직장암의 진행과정에 참여하는 COX-2와 iNOS의 명확한 역할을 알기 위해서는 세포 자연사(apoptosis)나 암전이 등과의 관련 연구가 추가적으로 필요할 것으로 생각되며 더불어 이들 효소 사이의 교차반응에 대한 정확한 기전을 밝힘으로써 임상에서의 실질적인 암 예방 및 치료에 도움을 얻을 수 있을 것으로 생각한다.

REFERENCES

- Mitchell JA, Akarasereenont P, Thiemermann C, Flower RJ, Vane JR. Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:11693-7.
- Goodwin JS, Ceuppens J. Regulation of the immune response by prostaglandins. *J Clin Immunol* 1992;52:5575-89.
- Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-42.
- Moochhala S, Chhatwal VJS, Chan STF, Nogi SS, Chia YW, Rauff A. Nitric oxide synthase activity and expression in human colorectal cancer. *Carcinogenesis* 1996;17:1171-4.
- Kojima M, Morisaki T, Tsukahara Y, Uchiyama A, Matsunari Y, Mibu R, et al. Nitric oxide synthase expression and nitric oxide production in human colon carcinoma tissue. *J Surg Oncol* 1999;70:222-9.
- Ambs S, Merriam WG, Bennett WP, Felley-Bosco E, Ogunfusika MO, Oser SM, et al. Frequent nitric oxide synthase-2 expression in human colon adenomas: implication for tumor angiogenesis and colon cancer progression. *Cancer Res* 1998;58:334-41.
- Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A, Giardiello FM, Ferrenbach S, DuBois RN. Up-regulation of cyclooxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology* 1994;107:1183-8.
- Jenkins DC, Charles IG, Baylis SA, Lelchuk R, Radomski MW, Moncada S. Human colon cancer cell lines show a diverse pattern of nitric oxide synthase gene expression and nitric oxide generation. *Br J Cancer* 1994;70:847-9.
- Masayuki K, Takashi M, Yasuhiro T, Akihiko U, Yasuo M, Ryuichi M, et al. Nitric oxide synthase expression and nitric oxide production in human colon carcinoma tissue. *J Surg Oncol* 1999;70:222-9.
- Salvemini D, Misko TP, Masferrer JL, Seibert K, Currie MG, Needleman P. Nitric oxide activates cyclooxygenase enzymes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:7240-4.
- Son HJ, Kim YH, Park DI, Kim JJ, Rhee PL, Paik SW, et al. Interaction between cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in gastric cancer. *J Clin Gastroenterol* 2001;33:383-8.
- Kong G, Kim EK, Kim WS, Lee KT, Lee YW, Lee JK, et al. Role of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in pancreatic cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17:914-21.
- Wilson KT, Fu S, Ramanujam KS, Meltzer SJ. Increased expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in Barrett's esophagus and associated adenocarcinomas. *Cancer Res* 1998;58:2929-34.
- Mei JM, Hord NG, Winterstein DF, Donald SP, Phang JM. Expression of prostaglandin endoperoxide H synthase-2 induced by nitric oxide in conditionally immortalized murine colonic epithelial cells. *FASEB J* 2000;14:1188-201.
- Vane JR, Mitchell JA, Appleton I, Tomlinson A, Bishop-Bailey D, Croxtall J, et al. Inducible isoforms of cyclooxygenase and nitric-oxide synthase in inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:2046-50.
- Swierkosz TA, Mitchell JA, Waner TD, Botting RM, Vane JR. Co-induction of nitric oxide synthase and cyclooxygenase: interactions between nitric oxide and prostanoids. *Br J Pharmacol* 1995;114:1335-42.
- Perkins DJ, Kniss DA. Blockade of nitric oxide formation down-regulates cyclooxygenase-2 and decreases PGE2 biosynthesis in macrophages. *J Leukoc Biol* 1999;65:792-9.
- Salvemini D, Masferrer JL. Interactions of nitric oxide with cyclooxygenase: in vitro, ex vivo, and in vivo studies. *Methods Enzymol* 1996;269:12-25.
- Egan RW, Paxton J, Kuehl FA Jr. Mechanism for irreversible self-deactivation of prostaglandin synthetase. *J Biol Chem* 1976;251:7329-35.
- Davidge ST, Baker PN, Laughlin MK, Roberts JM. Nitric oxide produced by endothelial cells increase production of eicosanoids through activation of prostaglandin H synthase. *Circ Res* 1995;77:274-83.
- DelaTorre A, Schroeder RA, Kuo PC. Alteration of

- NF-kappa B p50 DNA binding kinetics by S-nitrosylation. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;238:703-6.
22. Tsujii M, Dubois RN. Alteration in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Cell* 1995;83:493-501.
 23. Goodwin JS, Ceuppens J. Regulation of the immune response by prostaglandins. *J Clin Immunol* 1983;3:295-315.
 24. Hamberg M, Samuelsson B. Prostaglandin endoperoxides. Novel transformations of arachidonic acid in human platelets. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974;71:3400-4.
 25. Murata H, Kawano S, Tsuji S, Tsujii M, Sawaoka H, Kimura Y, et al. Cyclooxygenase-2 overexpression enhances lymphatic invasion and metastasis in human gastric carcinoma. *Am J Gastroenterol* 1999;94:451-55.
 26. Tamir S, deRojas-Walker T, Wishnok JS, Tannenbaum SR. DNA damage and genotoxicity by nitric oxide. *Methods Enzymol* 1996;269:230-43.
 27. Jenkins DC, Charles IG, Thomsen LL, Moss DW, Holmes LS, Baylis SA, et al. Roles of nitric oxide in tumor growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:4392-96.
 28. Marek WR, David CJ, Lesley H, Salvador M. Human colorectal adenocarcinoma cells: Differential nitric oxide synthesis determines their ability to aggregate platelets. *Cancer Res* 1991;51:6073-8.
 29. Brennan PA, Palacios-Callender M, Umar T, Hughes D, Spedding AV, Zaki GA. Correlation between type II nitric oxide synthase and p53 expression in oral squamous cell carcinoma. *Br J Oral Maxillofacial Surg* 2000;38:627-32.
 30. 도재혁, 정규, 김상진, 김형준, 정현주, 장세경. 대장직장암에서의 Inducible Nitric Oxide Synthase의 발현. *대한소화기학회지* 2001;38:247-53.
-