대한외과학회지 : 제 63 권 제 2 호
Vol. 63, No. 2, August, 2002

□ 원 저 □

유방암에서 Nitric Oxide Synthase의 발현

성균관대학교 의과대학 삼성제일병원 외과, [1]진단병리과, 인하대학교 의과대학 [2]외과학교실, [3]병리학교실

이해경 · 조백현 · 허민희 · 강성수 · 이지현 · 이성공 · 김혜선[1] · 김의정[1] · 문병산[2] · 김세중[2] · 한혜승[3]
주영채[3] · 신석환[2]

Nitric Oxide Synthase (NOS) Expression in Breast Cancer

Hae Kyung Lee, M.D., **Back Hyun Cho,** M.D., **Min Hee Hur,** M.D., **Sung Soo Kang,** M.D., **Jee Hyun Lee,** M.D., **Sung Kong Lee,** M.D., **Hye Sun Kim,** M.D.[1], **Yee Jeong Kim,** M.D.[1], **Byoung San Moon,** M.D.[2], **Sei Joong Kim,** M.D.[2], **Hae Seung Han,** M.D.[3], **Young Chae Chu,** M.D.[3], **Seck Hwan Shin,** M.D.[2]

Purpose: NO, a diatomic free radical, plays a diverse physiological and pathophysiological roles in the vascular, neuronal and immune systems. It is produced by nitric oxide synthase (NOS) which consists of three different isoforms. In this study we investigated NOS expression in 84 human breast carcinomas and its associations to other clinicopathological factors.
Methods: The immunohistochemical staining for NOS expression in 84 human breast carcinomas were performed and their medical records were reviewed retrospectively.
Results: iNOS expression in tumor cells was observed in 48.2% and eNOS expression was detected in 51.9%. iNOS expression in tumor cells has positive correlation with eNOS expression in tumor and is associated with iNOS expression in stroma and endothelial cells. Although iNOS expression in tumor cells has negative correlation with tumor size (P=0.047) and lymph node metastasis (P=0.002), it has no effects on 5 year overall and disease free survivals. iNOS expression in stroma also has negative correlation with tumor size (P=0.016) and nuclear grade (P=0.025). No significant correlation between eNOS expression and clinicopathological factors was observed but eNOS expression in tumor cells contributed to worse 5 year overall survivals (92.1% vs 77.0%) in marginal significance (P=0.053).
Conclusion: These data suggest that iNOS expression in tumor may have an inhibitory effect in tumor growth and lymph node metastasis. These results may be further investigated. **(J Korean Surg Soc 2002;63:105-111)**

Key Words: Nitric oxide synthase (NOS), Breast Cancer, Lymph Node Metastasis
중심 단어: Nitric oxide synthase (NOS), 유방암, 림프절 전이

Departments of Surgery and [1]Pathology, Samsung Cheil Hospital, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Departments of [2]Surgery and [3]Pathology, Inha Hospital, Inha University College of Medicine, Incheon, Korea

서 론

Nitric oxide (NO)는 두 개의 원자로 이루어진 매우 불안정한 free radical로 주위 환경의 다른 free radical이나 중금속과 쉽게 반응한다. 역할은 매우 다양하여 혈관확장, 신경전달체제, 항균물질, 면역조절 등의 생체 내 작용에 관여한다.(*1,2*) NO는 Nitric oxide synthase (NOS)에 의해 아미노산인 L-arginine으로부터 합성되는데 어떤 종류의 NOS가 관여하는가에 따라 만들어지는 방법도, 생리적 역할에도 차이가 있다. 즉 NOS에는 세 종류의 isoform이 있어서 각기 다른 유전자로부터 만들어지며 eNOS (endothelial)와 nNOS (neuronal)는 constitutive NOS로 분류되어 칼슘의존성 경로를 통해 저농도의 NO를 생산하며 이 경우 그 효과는 수초 내지 수분 내에 끝날 정도로 짧고 국소적이다. 반면 iNOS (inducible)는 일반적으로 대식세포나 중성구, 내피세포, 간세포, 심근세포, 연골세포 등에 존재하여 싸이토카인의 자극을 받아 칼슘비의존성 경로를 통해 고농도의 다량의 NO를 생산하게 되는데 이 경우 효과는 수일 이상 지속되기도 한다.(*3-5*)

최근 몇 년간 암의 면역 치료나 유전자 치료에 NO를 이용하려는 연구들이 활발하게 이루어지고 있는데 이는 NOS의 활성을 조절하여 궁극적으로 종양세포의 성장을 억제하

책임저자 : 신석환, 인천광역시 중구 신흥동 3가 7-206
㉾ 400-711, 인하대학교 의과대학 인하대병원 외과
Tel: 032-890-3435, Fax: 032-890-3097
접수일 : 2002년 5월 13일, 게재승인일 : 2002년 6월 11일
이 내용은 2002춘계 외과학회에서 포스터 발표되었음.

려는 것으로 보인다.(*6,7*) 이와 때를 같이 하여 여러 종양세포에서의 NOS의 활성도가 보고된 바 있다.(*8-10*) 유방암세포에서의 NOS의 활성도에 관한 연구는 1995년 Thomsen 등(*11*)이 처음으로 보고하였는데 iNOS는 종양세포 내에 존재하는 것이 아니라 종양세포와 연접한 기질 내에 혹은 종양세포 내에 위치한 대식세포에 존재한다는 점과 NOS의 활성도와 종양의 grade는 비례 관계가 있음을 증명하고 종양에 대한 NO의 생물학적 역할을 시사하였다. 이후의 여러 보고들은 NOS가 유방암의 종양세포 내에 존재한다는 사실을 증명하였고(*12*) 또한 NOS의 종양 성장 촉진 혹은 억제 역할에 관한 여러 상반된 결과들을 보고하였다.(*11-20*) 본 연구는 유방암 환자의 조직에서의 종양세포 및 기질세포와 혈관내피세포에서의 NOS (eNOS & iNOS)의 발현정도와 유방암 환자에서 임상병리적 예후 인자와의 상관관계를 알아보고 예후인자로서의 역할 및 가능성에 대해 알아보고자 하였다.

방 법

1) 연구 대상

1995년부터 1996년까지 침윤성 유관암으로 전 유방 혹은 부분 유방절제술 및 액와림프절 절제술을 시행받은 환자들을 대상으로 하였다. NOS에 대한 면역조직화학적 검색은 보관상태가 좋은 침윤성 유관암종의 파라핀 포매조직 84예를 이용하여 유방암조직과 정상조직이 함께 있는 부위를 염색하였다. 또한 84예의 환자의 의무기록을 토대로 임상 및 병리적 특성을 조사하였다.

2) NOS 면역조직화학 염색

파라핀 포매조직을 2 4 μm로 절편하여 탈파라핀시킨 후 증류수로 수세하고 H_2O_2 (3% H_2O_2 in Metanol)로 30분간 처리하고 Tris buffer로 5분씩 3번 수세한 후에 Normal Goat Serum (DAKO, 1 : 30)으로 40분간 처리한다. Tris buffer로 수세 후, Blocking (Seytek kit; Streptoavidin Biotin Universal Detection System)시키고 Tris buffer로 수세한다. 1차 항체 (iNOS, eNOS, nNOS; 1 : 1000, BD bioscience)로 4°C에서 overnight시킨다. 1차 항체로 처리 후 Biotinylate secondary antibody로 10분간 처리 후 Tris buffer로 수세하고, Streptoavidin peroxidase reagent로 10분간 처리하고 Tris buffer로 수세 후 DAB로 3 5분간 처리하면서 발색정도를 평가한다. 수세 후 Mayer hematoxyline으로 대조염색을 한 후 봉입한다. 종양세포 및 혈관내피세포의 염색정도는 negative 1, 2, 3으로 판독하였고 negative와 1을 음성, 2와 3을 양성으로 분류하였다. stroma fibroblast의 염색정도는 1 : 0 2/HPF, 2 : 2 10/HPF, 3 : 10 이상/HPF로 판독하고 1을 음성, 2와 3을 양성으로 분류하였다. 염색정도는 강하게 염색된 부위를 기준으로 하였다.

3) 통계학적 분석

두 군 간의 임상적 특징을 비교하기 위해서 student t-test, Chi-Square test, Fisher's exact test를 이용하였고, 생존율 분석을 위해서는 Kaplan-Meier test를 이용하였다. P값은 0.05 미만인 것을 통계적으로 유의하다고 판정하였다. 자료의 통계처리는 윈도우용 SPSS 10.0 통계 프로그램을 이용하였다.

결 과

1) NOS의 면역조직화학염색 정도

(1) iNOS: 종양세포 48.2%, 기질 21.7%, 혈관 내피세포 31.3%에서 양성 소견을 보였다(Fig. 1, 2). 비종양성 유방 상피세포는 ductal structure와 acinar structure 모두 일관성 없는

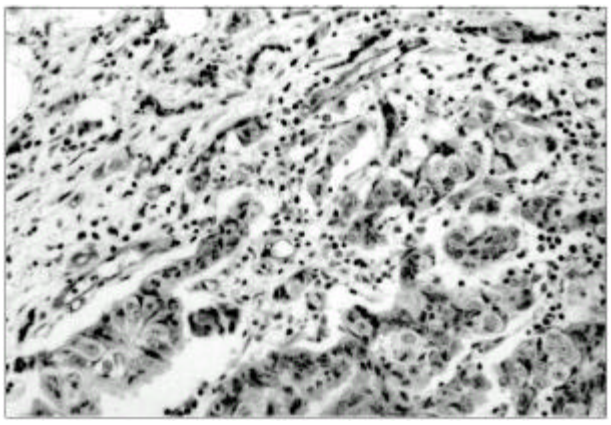

Fig. 1. Tumor cells and the vessels within tumor show strong eNOS immunoreactivity (×200).

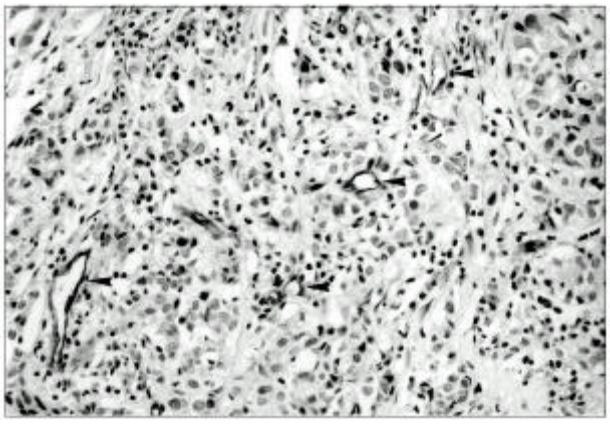

Fig. 2. Tumor cells show faint eNOS immunoreactivity but the vessels (arrows) within the tumor show strong eNOS immunoreactivity (×200).

염색양상을 나타냈다. 일부 예에서 종양에 가까이 위치한 주변 비종양세포 및 기질이 종양과 비슷한 정도로 염색되기도 하였으나 비교적 약하게 염색되었고 부분적 또는 미만성으로 염색되었다. 기질 내에서는 형질세포, 대식세포가 양성이었고, 섬유모세포 및 내피세포에서도 역시 세포질 양성 소견을 보였다. Invasive carcinoma와 연접하거나 섞여서 DCIS가 5% 미만으로 관찰되었는데 종양세포 세포질 내 면역조직화학염색 정도는 invasive component와 비슷하였으며 기질을 공유하였기 때문에 기질 내 염색양상을 나누어 비교할 수 없었다. 종양세포는 주로 세포질에 과립성으로 염색되는 양상이었고 같은 종양 내에서도 종양세포에 따라 염색강도에 차이가 있었지만 일부의 예를 제외하고는 대부분 미만성으로 염색되는 양상이었다.

2) eNOS: 종양세포 51.9%, 기질 50.6%, 혈관 내피세포 97.5%에서 양성을 나타냈다(Fig. 3, 4). iNOS 염색 양상과 마찬가지로 양성 비종양 유방상피세포는 ductal structure와 acinar structure 모두 일관성 없는 염색양상을 나타냈다. 하지만 iNOS에 비해 좀더 미만성으로 좀더 진한 정도로 염색되었으며 혈관내피세포 역시 좀더 자주 진하게 염색되는 양상이었다. 일부 예에서 종양에 가까이 위치한 주변 비종양 세포 및 기질이 종양과 비슷한 정도로 염색되기도 하였다. 기질 내 형질세포 및 대식세포가 양성이었다. DCIS 내

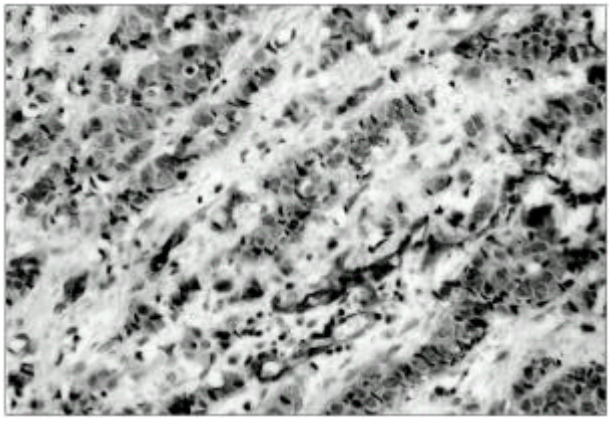

Fig. 3. Tumor cells show strong iNOS immunoreactivity. The staining intensity of the vessels within the tumor is also strong (×200).

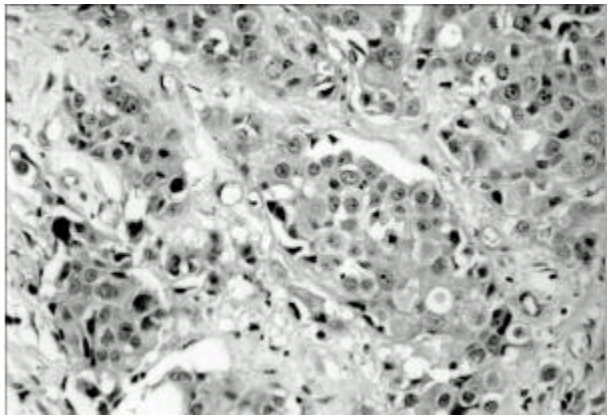

Fig. 4. Tumor cells show faint iNOS immunoreactivity. The staining intensity of the vessels within the tumor is slightly stronger than tumor cells (×200).

Table 1. Association between iNOS expression and clinical parameters

Parameter	iNOS expression					
	Tumor (%)	P value	Stroma (%)	P value	Endothelium (%)	P value
Tumor size ≤2 cm	21/34 (61.8)	0.047	12/34 (35.3)	0.016	15/34 (44.1)	0.054
>2 cm	19/49 (38.8)		6/49 (12.2)		11/49 (22.4)	
LN (−)	28/43 (65.1)	0.002	10/43 (23.3)	0.794	16/43 (37.2)	0.248
LN (+)	12/40 (30.0)		8/40 (20.0)		10/40 (25.0)	
ER (−)	13/25 (52.0)	1.000	5/25 (20.0)	0.558	9/25 (36.0)	1.000
ER (+)	20/38 (52.6)		11/38 (28.9)		14/38 (36.8)	
PR (−)	10/17 (58.8)	0.581	5/17 (29.4)	0.747	9/17 (52.9)	0.141
PR (+)	23/46 (50.0)		11/46 (23.9)		14/46 (30.4)	
C-erbB2 (−)	12/20 (60.0)	0.764	8/20 (40.0)	0.320	11/20 (55.0)	0.758
C-erbB2 (+)	12/22 (54.5)		5/22 (22.7)		10/22 (45.5)	
P53 (−)	17/26 (65.4)	0.210	10/26 (38.5)	0.303	16/26 (61.5)	0.111
P53 (+)	7/16 (43.8)		3/16 (18.8)		5/16 (31.3)	
NG I	1/3 (33.3)	0.238	1/3 (33.3)	0.061	2/3 (66.7)	0.332
NG II	15/24 (62.5)	0.241*	9/24 (37.5)	0.025*	6/24 (25.0)	1.000*
NG III	24/56 (42.9)		8/56 (14.3)		18/56 (32.1)	

*I-II/III.

Table 2. Association between eNOS expression and clinical parameters

Parameter	eNOS expression					
	Tumor (%)	P value	Stroma (%)	P value	Endothelium (%)	P value
Tumor size ≤2 cm	17/33 (51.5)	1.000	17/33 (51.5)	1.000	33/33 (100.0)	0.511
>2 cm	25/48 (52.1)		24/48 (50.0)		46/48 (95.8)	
LN (−)	19/43 (44.2)	0.183	22/43 (51.2)	1.000	43/43 (100.0)	0.217
LN (+)	23/38 (60.5)		19/38 (50.0)		36/38 (94.7)	
ER (−)	13/25 (52.0)	0.794	13/25 (52.0)	1.000	24/25 (96.0)	0.410
ER (+)	21/36 (58.3)		19/36 (52.8)		36/36 (100.0)	
PR (−)	9/17 (52.9)	1.000	8/17 (47.1)	0.776	17/17 (100.0)	1.000
PR (+)	25/44 (56.8)		24/44 (54.5)		43/44 (97.7)	
C-erbB2 (−)	10/19 (52.6)	1.000	10/19 (52.6)	0.758	19/19 (100.0)	
C-erbB2 (+)	12/22 (54.5)		13/22 (59.1)		22/22 (100.0)	
P53 (−)	13/25 (52)	1.000	14/25 (56.0)	1.000	25/25 (100.0)	
P53 (+)	9/16 (56.3)		9/16 (56.3)		16/16 (100.0)	
NG I	0/3 (0.0)	0.187	1/3 (33.3)	0.437	3/3 (100.0)	0.799
NG II	13/24 (54.2)	0.647*	10/24 (41.7)	0.244*	23/24 (95.8)	1.000*
NG III	29/54 (53.7)		30/54 (55.6)		53/54 (98.1)	

*I-II/III

Table 3. Association of iNOS expression according to location

	iNOS in stroma		iNOS in endotheial cell	
	Negative	Positive	Negative	Positive
iNOS in tumor (−)	43 (100%)	0 (0%)	38 (88.4%)	5 (11.6%)
iNOS in tumor (+)	22 (55.0%)	18 (45.0%)	19 (47.5%)	21 (52.5%)
P value	0.000		0.000	

에 종양세포는 invasive component와 비슷한 양상이었다. 종양내 혈관세포는 iNOS에 비하여 매우 진하게 염색되었다.

2) NOS의 발현에 따른 임상적 특성과 병리학적 특성의 비교

종양세포에서의 iNOS의 발현은 종양의 크기(P=0.047)와 림프절 전이(P=0.002)와 역상관관계를 가지며, 기질에서의 iNOS의 발현은 종양의 크기(P=0.016)와 핵의 등급(P=0.025)과 역상관관계를 가진다(Table 1).

종양세포, 기질 및 내피세포에서의 eNOS의 발현에 따른 예후인자와의 관계는 통계적으로 유의한 연관성을 관찰할 수 없었다(Table 2).

3) 종양 내 위치에 따른 NOS 발현의 상관 관계

기질 및 내피세포에서의 iNOS 발현은 종양세포에서의 iNOS의 발현과 상관관계를 갖는다(Table 3). 특히 종양 세포에 iNOS 발현이 음성인 경우 전 예에서 기질 내 iNOS 발현이 음성이었다. 또한 종양 세포에서의 두 개의 isoenzyme (eNOS & iNOS)의 발현은 경계역 유의수준의 상관관계를 나타내었다(Table 4).

Table 4. Correlation of iNOS and eNOS expression in tumor

	eNOS in tumor	
	(−)	(+)
iNOS in tumor (−)	24 (57.1%)	18 (42.9%)
iNOS in tumor (+)	14 (36.8%)	24 (63.2%)
P value	0.078	

Table 5. Overall survival rate according to NOS expression (Kaplan-Meier)

	5 year survival (%)	P value (log rank)
iNOS-T (−)	85.5	0.558
iNOS-T (+)	83.3	
iNOS-S (−)	85.5	0.737
iNOS-S (+)	81.6	
iNOS-E (−)	83.8	0.723
iNOS-E (+)	87.5	
eNOS-T (−)	92.1	0.053
eNOS-T (+)	77.0	
eNOS-S (−)	84.6	0.343
eNOS-S (+)	79.2	
eNOS-E (−)	50.0	0.116
eNOS-E (+)	85.2	

T = tumor; S = stroma; E = endothelium.

Table 6. Disease free survival rate according to NOS expression (Kaplan-Meier)

	5 year survival (%)	P value (log rank)
iNOS-T (−)	75.7	0.403
iNOS-T (+)	83.0	
iNOS-S (−)	78.8	0.849
iNOS-S (+)	80.0	
iNOS-E (−)	78.3	0.724
iNOS-E (+)	81.0	
eNOS-T (−)	86.7	0.120
eNOS-T (+)	70.5	
eNOS-S (−)	82.1	0.449
eNOS-S (+)	75.0	
eNOS-E (−)	50.0	0.000
eNOS-E (+)	80.7	

Disease = Locoregional recurrence, distant metastasis & contralateral breast cancer; T = tumor; S = stroma; E = endothelium.

4) NOS의 발현에 따른 생존율 비교

종양, 기질 및 내피세포에서의 iNOS와 eNOS 발현에 따른 5년 전체 생존율 및 무병 생존율의 차이는 관찰할 수 없었다. 단지 종양 세포에서의 eNOS 발현은 경계역 유의수준(P=0.053)의 5년 전체 생존율 감소를 보여주었다(Table 5, 6). 내피세포에서는 2예를 제외한 79예에서 eNOS가 양성이었으므로 생존율 비교에 의미가 없었다.

고 찰

NO는 생리적 현상뿐만 아니라 병리적 과정에도 중요한 매개체 역할을 하는 것으로 알려져 왔다. 이 작은 물질은 3가지 isoform을 갖는 nitric oxide synthase (NOS)라는 효소에 의해 L-arginine이 L-citruline으로 전환되는 과정에 생기는 산물이다.(*1,2*) 광범위한 NO의 역할은 크게 3가지로 분류되는데 첫째, intracellular signal, 둘째, transcellular messenger, 셋째, cytotoxic species이다. 이와 더불어 최근의 몇몇 연구들은 종양 내 NOS의 발현이 종양의 발생 및 성장 과정에 기여한다고 보고하였다. 실제로 1994년 Thomsen 등(*8*)이 난소 및 자궁 내 종양에서 NOS의 존재를 확인한 후에 다른 여러 종양에서도 NOS의 존재가 확인되었다.(*21-29*) 유방암에서도 Thomsen 등(*11*)이 종양 내 대식세포 내에서 NOSII (iNOS)의 존재를 확인하였고 NO의 생성 및 역할에 면역반응이 관여한다고 주장하였다. 그러나 이후의 여러 보고들에서 다른 여러 종양과 마찬가지로 유방 종양 세포 자체 내에서도 NOS가 발현됨을 관찰하였고(*12*) 더불어 eNOS 혹은 iNOS의 발현에 따른 임상 및 병리학적 연관성을 규명하려 하였다. 하지만 현재로서는 여러 엇갈린 견해로 인해 종양의 성장과정에 NO의 정확한 역할에 관해서는 논란이 많다. Thomsen 등(*11*)은 정상 및 양성 유방조직에 비해 침윤성 유방암 조직에서 높은 cNOS 및 iNOS의 활성도가 관찰되며 NO의 생합성은 종양의 등급과 비례한다고 하였다. Duenas-Gonzales 등(*13*)은 iNOS의 발현과 림프절 전이와는 비례의 상관 관계가 있고 항전이 유전자(antimetastatic gene)의 하나인 nm23의 양성도와 iNOS의 발현에는 반비례 관계가 있으므로 iNOS는 종양의 전이를 증진시키는 역할이 있다고 하였다. 또한 Vakkala 등(*14*)은 종양과 기질 모두에서 iNOS가 발현된 유방암에서 apoptotic index와 microvessel density가 높게 관찰되며, 기질 내 iNOS의 발현과 전이에는 비례의 상관관계가 있다고 하였다. 그러나 종양세포 내 iNOS의 발현이 종양의 증식과 전이를 억제한다는 보고도 있다. Tschugguel 등(*15*)은 정상 유방조직을 포함하여 유방암의 종양의 등급이 낮을수록 iNOS의 발현의 양성률이 증가한다고 하여 Thomsen의 결과와 반대의 결과를 보고하였다. 또한 Reveneau 등(*12*)은 NOSII의 활성도와 종양 등급(tumor grade) 및 증식 속도(proliferation rate) 간에 반비례의 상관관계가 있고, NOSII의 활성도가 높을수록 프로게스테론 수용체(progesterone recptor)의 발현이 증가됨을 보고하였다. 저자의 경우 결과에서 알 수 있듯이 기질(21.7%)에서뿐만 아니라 종양세포(48.2%) 및 혈관내피세포(31.3%)에서도 iNOS가 발현됨을 관찰하였고 종양 내 iNOS가 발현된 경우 종양의 크기가 작고(P=0.047), 림프절 전이가 적게(P=0.002)되어 iNOS의 발현이 종양의 성장과 전이를 억제하는 효과를 나타내었다. 또한 기질 내 iNOS의 발현은 종양의 크기가 작고(P=0.016), 핵의 등급(P=0.025)이 낮을수록 양성률이 높았다. 즉 종양 및 기질에서의 iNOS의 발현이

종양의 성장 및 전이를 억제하는 역할이 있음을 시사하였다. 그러나 5년 전체 생존율 및 무병생존율에는 이를 증명할 만한 차이를 발견할 수 없었다.

eNOS는 혈관내피세포에서 존재하는 효소로 iNOS와는 구조와 유전자 위치가 다르다. NO를 생산하는 과정도 칼슘의존성 경로를 통하며 저농도의 소량의 NO를 생산하여 혈관수축을 조절하는 것으로 알려져 있다.(*2*) 본 연구의 결과에서 보면 혈관내피 세포의 경우 97.5%의 양성률을 보였고, 종양세포에서 51.9%, 기질에서 50.6%의 양성률을 보였다. 종양과의 연관성에 관한 논문은 거의 희박한 편이나 Vakkala 등(*17*)은 유방암 종양세포에서 65%의 양성률을 보고하였으며 에스트로겐 수용체 혹은 프로게스테론 수용체 양성에서 eNOS의 발현의 양성률이 높은 것을 보고하고 eNOS의 발현이 호르몬 조절을 받을 것이라고 주장하였다. 이는 Martin 등(*16*)이 eNOS의 발현과 에스트로겐 수용체 발현이 상관관계가 있음을 주장한 것과 일치한다. 그는 또 eNOS의 발현과 종양의 등급 및 림프절 전이는 역상관관계가 있다고 보고하였으나 그 결과에 대한 충분한 이해는 구하지 못하였다. 본 저자의 경우 결과에서 보듯이 eNOS와 다른 예후인자와의 연관성은 규명할 수 없었다. 하지만 5년 전체생존율에서 eNOS 양성군이 77%, eNOS 음성군이 92.1%로 경계역의 유의한 차이는 인정되었다(P=0.053).

유방암에서의 NO의 역할은 이중적으로 나타나는데 이를 NO 자체의 특성으로 설명하기도 한다. 즉 eNOS에 의해 만들어지는 NO는 저농도의 NO로 종양의 성장을 촉진시키는 역할을 하지만 iNOS에 의해 만들어지는 NO는 고농도의 NO로 세포독성과 항증식작용을 나타낸다고 하였다.(*9*) 하지만 본 논문의 결과를 보더라도 한 종류의 종양세포가 iNOS혹은 eNOS를 한 가지만을 선택하여 발현하는 것 같지는 않다. 즉 두 isoform 중 어느 것이 우세한가에 따라 만드는 NO의 양도 다르고 종양의 성장 과정에 미치는 영향도 다르리라 추측된다. 또한 종양의 성장 단계에 따른 각 NOS의 발현도 연구대상이 될 것이다. 이 과정이 밝혀진다면 환자 개인에 맞는 NOS 억제제 혹은 NOS 발현 유도제 등이 환자 치료에 이용될 수 있으리라 본다.

결 론

iNOS는 유방암 조직의 기질에서 뿐만 아니라 종양세포에서도 발현되며 iNOS 발현율은 48.2%였다. eNOS도 혈관내피 세포에서 뿐만 아니라 종양세포에서 51.9%의 발현율을 나타냈다. 각각의 양성 발현은 비례의 상관 관계가 있었고 기질 및 내피세포에서의 iNOS 발현은 종양세포에서의 iNOS 발현과 비례의 상관 관계가 있었다. 종양세포에서의 iNOS 발현은 종양의 크기와(P=0.047) 림프절 전이(0.002)와 역상관관계가 있었다. 또한 기질에서의 iNOS발현은 종양의 크기와 핵의 등급에 역상관관계를 나타냈다. eNOS 발현 유무는 다른 예후인자와의 연관성을 관찰할 수 없었으나 eNOS의 양성 발현의 경우 5년 전체 생존율에서 경계역 유의수준의(P=0.053) 보다 나쁜 생존율(92.1% vs 77.0%)을 보였다. 이상의 결과에서 유방암에서의 iNOS 발현이 종양의 증식과 림프절 전이를 억제하는 효과가 있다고 하겠다.

REFERENCES

1) Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. Pharmacol Rev 1991;43: 109-42.
2) Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide : insights into regulatory, cytotoxic and cytoprotective mechanisms of notric oxide. Free Radic Biol Med 1998;25:434-56.
3) Geller DA, Billiar TR. Molecular biology of nitric oxide synthases. Cancer Metastasis Rev 1998;17:7-23.
4) Jung HT. The biologic role of Nitric oxide. Kor Soc Med Bioch Mol Biol News: Trends in Medical Research 1998;64-6.
5) Jang KC. Physiologic and pharmacoloogic action of nitric oxide and the perspective of future development of NOS inhibitor. Kor Soc Med Bioch Mol Biol News: Trends in Medical Research 1998;67-9.
6) Xie K, Huang S, Dong Z, Juang SH, Gutman M, Xie QW. Transfection with the inducible nitric oxide synthase gene suppresses tumorigenicity and abrogates metastasis by K-1735 murine melanoma cells. J Exp Med 1995;181:1333-43.
7) Xie K, Fidler IJ. Therapy of cancer metastasis by activation of the inducible nitric oxide synthase. Cancer Metastasis Rev 1998;17:55-75.
8) Thomsen LL, Lawton FG, Knowles RG, Beesley JE, Riverosmoreno V, Moncada S. Nitric oxide synthase activity in human gynecological cancer. Cancer Res 1994;54:1352-4.
9) Jenkins DC, Charles IG, Thomsen LL, Moss DW, Holmes LS, Baylis SA. Roles of nitric oxide in tumor growth. Proc Natl Acad Sci USA 1995;92:4392-6.
10) Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthase in mammals. Biochem J 1994;298:249-58.
11) Thomsen LL, Miles DW, Happerfield L, Bobrow LG, Knowles RG, Moncada S. NOS activity in human breast cancer. Br J Cancer 1995;72:41-4.
12) Reveneau S, Arnould L, Jolimoy G, Hilpert S, Lejeune P, Saint-Giorgio V, et al. NOS in human breast cancer is associated with tumor grade, proliferation rate, and expression of progesterone receptors. Lab Invest 1999;79:1215-25.
13) Duenas-Gonzales A, Isales CM, del Mar Abd-Hernandez M, Gonzalez-Sarmiento R, Sangueza O, Rodriguez-Commes J. Expresssion of iNOS in breast cancer correlates with metastatic disease. Modern Pathol 1997;10:645-9.
14) Vakkala M, Kahlos K, Lakari E, Paakko P, Kinnula V, Soini Y. INOS expression, apoptosis, and angiogenesis in in situ and invasive breast carcinomas. Clin Cancer Res 2000;6:2408-16.

15) Tschugguel W, Schneeberger C, Unfried G, Czerwenka K, Weninger W, Mildner M, et al. Expression of iNOS in human breast cancer depends on tumor grade. Breast Cancer Res Treat 1999;56:145-51.
16) Martin JH, Begum S, Alalami O, Harrison A, Scott KW. eNOS: Correlation with histologic brade, LN status, and ER expression in human breast cancer. Tumor Biol 2000;21:90-7.
17) Vakkala M, Paakko P, Soini Y. eNOS expression is associated with ER and PR status in invasive breast carcinoma. Int J Oncol 2000;17:667-71.
18) Thomsen LL, Miles DW. Role of nitric oxide in tumor progression: Lessons from human tumours. Cancer and Metastasis Reviews 1998;17:107-18.
19) Mortensen K, Holck S, Christensen IJ, Skouv J, Hougaard DM, Blom J, Larsson LI. Endothelial cell nitric oxide synthase in peritumoral microvessels is a favorable prognostic indicator in premenopausal breast cancer patients. Clin Cancer Res 1999; 5:1093-7.
20) Martin JH, Alalami O, van den Berg HW. Reduced expression of enthothelial and inducible nitric oxide synthase in a human breast cancer cell line which has acquired estrogen independence. Cancer Letters 1999;144:65-74.
21) Ambs S, Bennett WP, Ogunfusika MO, Oser SM, Khan MA, Jones RT, et al. Vascular endothelial growth factor and nitric oxide synthase expression in human lung cancer and the relation to p53. Br J Cancer 1998;78:233-9.
22) Cobb CS, Brenman JE, Aldape KD, Bredt DS, Isael MA. Expression of nitric oxide synthase in humal central nervous system tumors. Cancer Res 1995;55:727-30.
23) Rosbe KW, Prazma J, Petruz P, Mims W, Ball SS, Weissler MC. Immunohistochemical characterization of nitric oxide synthase in squamous cell carcinoma of the head and neck. Otolaryngol Head Neck Surg 1995;113:541-9.
24) Wilson KT, Fu S, Ramanujan 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.
25) Klotz T, Bloch W, Volberg C, Engelmann U, Addicks K. Selective expression of inducible nitric oxide synthase in human prostate carcinoma. Cancer 1998;82:1897-903.
26) Ambs S, Merriam WG, Bennett WP, Felley-Bosco E, Ogunfusica 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.
27) Swana HS, Smith SD, Perrotta PL, Saito N, Wheeler MA, Weiss RM. Inducible nitric oxide synthase with transitional cell carcinoma of the bladder. J Urol 1999;161:630-4.
28) Hajri A, Metzger E, Vallat F, Coffy S, Flatter E, Evrard S, et al. Roles of nitric oxide in pancreatic tumor growth:In vivo and in vitro studies. Br J Cancer 1998;78:841-9.
29) Weninger W, Rendle M, Pammer J, Mildner M, Tschugguel W, Schneeberger C, et al. Nitric oxide synthase in Kaposi's sarcoma are expressed predominantly by vessels an tissue macrophages. Lab Invest 1998;78:949-55.