

한국인과 백인 젊은 여성 유방암 환자에서 Cyclooxygenase-2 발현과 HER-2/neu 증폭의 비교 연구

순천향대학교 의과대학 방사선종양학과*, 병리과†, 예일대학교 의과대학 치료방사선과‡

최두호* · 김은석* · 김용호* · 진소영† · 이동화† · Haffty BG‡

목적: 한국인은 젊은 여성 유방암의 비율이 높으며 저자들의 선행 연구에서 HER-2/neu 과발현이 백인에 비해 높았으며 나쁜 예후 인자였다. 이 환자들을 대상으로 COX-2 발현의 비교와 HER-2/neu 과발현의 관계를 비교하고 한국인에서 COX-2의 예후인자로서의 역할을 알아보기 위해 이 연구를 시행하였다.

대상 및 방법: 45세 이하의 한국인 여성 유방암 환자와 같은 나이의 백인 여성 환자 60명의 파라핀 포매조직을 이용하여 COX-2 염색을 시행하였다. COX-2 발현을 판독하고 한국인과 백인의 발현 비율을 비교하였다. 그리고 한국인 환자의 추적 검사 결과와 COX-2 관계를 조사하여 예후인자로서의 역할을 연구하였다.

결과: 판독이 가능한 전체 환자의 COX-2 발현 비율은 27.6% 이었으며 한국인은 37.9%, 백인은 20.8%로 한국인 젊은 여성의 비율이 다소 높았으나 통계적인 유의성은 없었다($p=0.090$). 전체 환자의 COX-2 발현과 HER-2/neu 과발현의 상관 관계는 발견하지 못하였지만 에스트로겐 수용체 음성과 COX-2 발현은 통계적으로 유의한 관계가 있었다. ($p=0.046$) COX-2 양성의 5년 무병 생존율은 67.9%로 COX-2 음성의 81.6%에 비해 낮았으나 통계적인 유의성이 없었다($p=0.3607$).

결론: 젊은 여성 유방암 환자에서 한국인과 백인간의 COX-2 발현 비율의 차이는 통계적으로 유의하지 않았으며 HER-2/neu 과발현과의 관련성도 없었으며 예후와의 관련성도 통계적으로 유의하지 않았고 에스트로겐 수용체 음성과의 관련성은 있었다. COX-2 발현과 다른 임상적 병리적 인자와의 관계나 예후인자로서의 역할을 찾기 위해 보다 많은 환자를 대상으로 한 연구가 필요하며 COX-2 발현에 따라 방사선치료가 예후에 미치는 영향에 관한 연구도 필요하다.

핵심용어: 젊은 여성, 유방암, COX-2, HER-2/neu

서 론

암은 전 세계적으로 많은 지역에서 사망 원인 중에서 으뜸을 차지하고 있으며 그 중에서도 유방암은 여성암 중에서는 빈도가 가장 높으며 특히 오늘날의 서구 여성은 8명 중 한 명이 일생동안 유방암에 걸린다고 한다. 우리나라의 경우 과거에는 인구 10만 명당 유방암의 발생 비율이 세계적으로 다른 지역에 비해 비교적 낮은 편에 속하였고 여성암 중에서 빈도 순위도 90년대 중반까지도 자궁암, 위암

다음이었으나 최근에는 절대적으로 환자 수가 많아지고 상대적인 비율도 증가하여 한국 중앙 암 등록 사업의 통계에 의하면 2001년부터는 여성암 중에서 그 빈도가 으뜸을 차지하게 되었다.¹⁾

그런데 우리나라 여성 유방암의 가장 큰 특징 중의 하나는 유방암으로 진단되는 연령이 서구나 다른 나라의 여성에 비해 매우 낮다는 사실이다. 서구 여성의 경우 유방암은 나이가 비교적 많은 여성에게서 많이 발생하며 주로 50대, 60대에 흔하고 진단 당시의 평균나이가 60대 초반이라고 하며 40세 이하의 젊은 여성 유방암은 전체 유방암 환자의 3~8% 정도로 평균 5% 정도 밖에 안 된다.²⁾ 그리고 비교적 젊은 나이에 많이 발생한다고 알려진 미국의 흑인도 40세 이하의 환자가 10% 정도라고 한다. 그러나 한국인 여성은 서구의 백인 여성에 비해 젊은 여성에서 발생하는 비율이 매우 높다. 2001년도 한국 유방암 등록사업 결과의

이 논문은 2004년 11월 24일 접수하여 2004년 12월 13일 채택되었음. 본 연구는 2003년도 순천향대학교 학술조성 연구비 지원을 받아 수행하였음.

책임저자: 최두호, 순천향대학교 의과대학 방사선종양학과
Tel: 02)709-9412, Fax: 02)709-9414
E-mail: dohochoi@hosp.sch.ac.kr

통계를 보면 40세 이하가 전체 유방암 환자의 25%를 차지하며 그 전후의 통계에서도 25% 정도를 유지하며 45세 이하의 환자가 전체의 50%를 차지하여 서구 여성에 비해 평균적으로 15년 이상 젊은 시절에 발병하며 50세 이하가 60%를 차지한다.¹⁾ 즉 서구 여성의 유방암은 폐경기 이후의 질환인데 비해 한국 여성 유방암의 특성은 폐경기 이전의 암이 다수를 이루는 특징을 가지고 있다.

젊은 여성의 유방암은 나이에 따른 여성 유방암에 비해 사회적, 경제적으로 불리한 여건에 있을 뿐만 아니라 생물학적으로도 나쁜 예후인자이다. 젊은 여성이 유방암에 걸리게 되면 한참 일할 나이에 장기간의 치료로 인해 사회적 경제적 손실이 클 수밖에 없을 뿐만 아니라 가족 구성원 특히 어린 자녀를 키우는데 지장을 초래하며 치료로 인해 2세를 못 가지거나 늦게 가져야 하는 불리함도 있다. 그러나 무엇보다도 크게 불리한 점은 생물학적으로 젊은 여성의 유방암은 예후가 좋지 않다는 데 있다. 젊은 여성의 유방암은 대체로 나이가 많은 여성 유방암에 비해 조직 분화도, 핵 분화도가 나쁘며, 세포 주기상의 S 기의 분획이 높고 에스트로겐, 프로게스테론 등의 호르몬 수용체 음성이 많은 등 여러 가지 나쁜 예후인자를 많이 가지고 있어서 대체로 예후가 나쁘다. 젊은 여성의 유방암이 상대적으로 예후가 나쁜 것은 서구 여성 유방암에 대한 많은 연구에서 공통적으로 나타난 결과이기도 하지만 한국인을 대상으로 조사한 연구에서도 역시 같은 결과를 보이고 있다. 따라서 한국인이 예후가 나쁜 젊은 여성 유방암환자의 비율이 높은 것은 환경적인 또는 식생활 습관의 차이 때문일 것이라는 가능성 이외에도 생물학적으로, 유전적으로 그 특성이 서구인 또는 다른 인종하고 다를 수 있다.

실제로 인종간의 암의 특성의 차이에 관한 연구는 역학적인 관점에서뿐만 아니라 생물학적, 병리학적, 그리고 분자생물학적, 그리고 최근의 유전학적 관점에서도 많은 연구가 진행되어 왔으며 그 중에서도 비교적 빈도수가 높은 유방암의 경우 백인과 흑인 또는 히스패닉계와의 특성이나 예후의 차이에 관한 여러 가지 많은 연구가 미국을 중심으로 진행되어 왔다. 여러 가지 연구결과 특정한 인자들은 인종간의 차이를 보인다는 결론이 많이 보고되고 있다. 즉 흑인은 백인보다 발생 연령이 낮고 진단 당시 병의 진행상태(병기)가 상대적으로 높으며 예후가 더 불량하며 히스패닉계는 그 중간이라는 보고가 많다.^{2,9)} 인종간의 차이가 나는 이유는 사회, 경제, 문화적으로 동일 집단이 아니어서, 흑인 또는 히스패닉계가 학력이나 경제력이 낮아서 조기 진단을 하기 힘들거나 치료를 원칙대로 못 받는 점도 있겠지만 그러한 요소를 다 배제하고 동일한 그룹끼리 비

교하여 조사해도 인종간의 차이를 보인다고 한다. 이러한 사실은 생물학적인 연구로도 확인되고 있는데 모든 결과가 비슷하게 나오는 것은 아니나 대체적으로 같은 병기와 나이의 흑인은 백인보다 호르몬 수용체 음성 빈도가 높고 악성도가 높으며 S 분획의 비율이 높은 특성이 있으며 이러한 요소가 흑인 유방암 환자가 예후가 나쁜 근거가 된다고 연구자들은 밝히고 있다.^{3,5,8,9)}

동양인과 다른 인종과의 유방암에 관한 비교 연구는 많지 않으며 한국인이 포함된 것은 별로 없다.¹⁰⁾ 미국에서의 연구는 일본인이 동일 병기의 환자에서 백인이나 흑인보다 예후가 좋은 결과를 보여주고 있으나 그 이유에 대한 역학적, 생물학적 연구 결과는 별로 없다.²⁾ 저자들은 앞에서 제시한 근거로 한국인은 생물학적으로 서구인과 차이를 보이는 인자가 있을 수 있다는 가정 아래 연구를 진행하게 되었다. 그리고 지금까지의 유방암의 진단부터 치료에 이르기까지 모든 자료는 주로 서구인을 기준으로 만들어진 것이므로 한국인이 다른 특성을 가진다면 일반적인 치료의 패턴도 다를 수 있기에 그 자료를 만들고자 여러 가지 연구를 진행하게 되었다. 그 중의 하나가 한국인 젊은 여성에서의 유방암 유전자의 특성에 관한 것으로 대부분의 서구 백인들에 비해 유방암 유전자 BRCA1과 BRCA2의 돌연변이 비율이 높았을 뿐만 아니라 투과도(penetrance)도 차이가 있을 것으로 연구되었다.¹¹⁾ 저자들의 다른 연구로는 면역조직화학적 인자의 비교 연구를 위해 대부분이 방사선치료를 시행한 환자를 대상으로 한국인과 백인 젊은 여성 유방암 환자를 대상으로 모두 5개의 biomarker (에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체, p53, cyclin D1, 그리고 HER-2/neu)를 사용하여 비교하였다. 연구 결과 HER-2/neu 과발현은 Dako 사의 Hercep test를 통한 검사에서 통계적으로 유의한 차이를 보였으며 한국인 젊은 유방암 환자에서 과발현 되는 비율이 높았고 FISH (fluorescence in situ hybridization) 검사를 통해서도 확인되었다.¹²⁾ 그리고 한국인 젊은 여성 환자들은 HER-2/neu 증폭이 있는 경우 무병 생존율이 유의하게 감소함을 발견하였다.¹³⁾

이 환자들을 대상으로 최근에 많이 연구되고 있는 COX-2 발현이 두 인종간에 차이를 보이는지, 임상적, 병리적 여러 인자들과의 관계는 있는지 그리고 예후인자로서의 역할을 하는지에 대한 연구를 계획하게 되었다.

프로스타글란딘 세포내 산화효소로 알려진 Cyclooxygenase-2 (COX-2)는 외부의 자극에 새로 유도되고 합성되어 염증 등의 증세를 일으키고 유사분열, 세포접합, 면역체계의 감시와 세포자멸에 영향을 주어 암의 발생기전에도 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 최근의 연구 결과

에서 대장암, 유방암, 식도암, 자궁암, 폐암, 유암 등에서 COX-2의 발현이 증가되어 있고 COX-2의 활성을 억제하는 아스피린 등의 비스테로이드성 소염제와 다른 COX-2 억제제(Celecoxib) 등이 유방암 등의 발생을 억제시킨다고 알려져 있다.^{14,15)} 그리고 최근의 외국 연구에서 COX-2는 HER-2/neu 양성에서 과발현되고 다른 여러 가지 나쁜 예후인자와도 관련이 있어서 유방암의 나쁜 예후인자로 밝혀지고 있다.^{16~20)} 따라서 저자들의 선행 연구에서^{12,13)} 한국인이 HER-2/neu 과발현 또는 증폭이 많은 특징이 있으므로 COX-2도 과발현 되는지를 비교할 필요성이 있다. 그리고 추가적으로 한국인에서도 HER-2/neu와 관련성이 있는지에 대한 연구가 필요하다고 생각되었다. 그리고 연구 결과 한국인 유방암, 특히 젊은 여성의 COX-2 발현율이 높고 HER-2/neu와 관련이 있다면, HER-2/neu에 대한 monoclonal antibody가 치료에 응용되듯이 COX-2억제제도 한국인 유방암의 치료 또는 예방에 잘 활용될 수 있다는 기초 자료를 제공해 줄 수 있을 것이다. 따라서 젊은 여성 유방암 환자에서 인종간의 COX-2 발현의 비교 연구가 필요하여 본 연구를 진행하게 되었다.

대상 및 방법

이 연구의 재료는 한국인과 백인의 젊은 여성(45세 이하)

의 면역화학적 특성을 비교하기 위해 사용하였던 환자들의 포르말린 포매조직을 대상으로 하였다. 즉 1996년-2000년 사이에 순천향대학병원에서 수술을 시행하고 수술 후 항암화학요법이나 방사선치료를 시행한 환자 중에서 포르말린 포매조직이 있는 60명의 환자를 임의로 선택하고 같은 나이의 백인 환자들의 병리조직을 미국 예일대학교 병원의 치료방사선과에서 연구를 위해 보관 중이던 파라핀 포매조직과 병리과에 보관된 환자들 중에서 병기가 비슷한 환자의 조직을 선택하였다.

유방암 환자의 파라핀 포매 조직에서 5µm 두께로 슬라이드에 담아서 염색을 실시하였다. 쥐의 COX-2 단클론 항체는 BD Biosciences 회사(New Jersey, USA)를 사용하였다. 염색 과정을 간단히 기술하면 슬라이드는 Citrate Buffer 용액에서 마이크로웨이브로 10분간 끓인 후 상온에서 COX-2 항체(1 : 100)로 하룻밤 동안 처리한 후 비이오티닐화된 항 마우스 2차 항체로 처리하였으며 염색은 AEC 시스템을 사용하였다.

병리조직의 판독은 환자의 상태를 모르는 2명의 병리학자가 판독하였다. 염색의 결과는 COX-2 염색 양성세포의 비율과 강도의 곱으로 평가하였다. 세포질에 염색된 것을 양성반응으로 평가하였으며 양성 반응의 비율은 0 (0% 양성), 1 (<10% 양성 세포), 2 (10~50% 양성 세포), 3 (50~80% 양성 세포), 또는 4 (>80% 양성세포)로 하였으며 염

Table 1. Characteristics of Patients with Breast Carcinoma by Race Category

Characteristics	No. of patients			p-value
	Total (n=120)	Korean (n=60)	White (n=60)	
Age (years)				
Mean	36.8	36.7	36.9	
Median	37.0	37.0	37.0	NS
Range	22-45	22-45	25-45	
T classification at diagnosis				
Tis	3	2 (3.3)	1 (1.7)	
T1	63	29 (48.3)	34 (56.7)	
T2	48	25 (41.7)	23 (38.3)	NS
T3	6	4 (6.7)	2 (3.3)	
Histologic classification				
IDC	107	56 (93.3)	51 (85.0)	
DCIS	3	2 (3.3)	1 (1.7)	
Lobular ca	5	1 (1.7)	4 (6.7)	NS
Medullary ca	4	1 (3.3)	3 (5.0)	
Mucinous ca	1	0	1 (1.7)	
Axillary node status				
Positive	41	30	11	
Negative	67	30	37	0.001
No dissection	12	0	12	

IDC: infiltrating ductal carcinoma, DCIS: ductal carcinoma in situ

색의 강도는 0 (음성), 1 (약), 2 (중간), 또는 3 (강)으로 표시하였다. 따라서 면역반응의 점수는 0에서 12사이가 되도록 하였으며 COX-2 발현과 다른 인자와의 비교를 위하여 점수가 0~3을 음성, 4~6을 중간 양성, 7~12를 강 양성으로 표시하였으며 통계 처리를 위해 중간 양성과 강 양성을 양성 그룹으로 포함시켰다. 환자의 치료에 대한 반응과 COX-2와의 관계를 조사하기 위해 추적 조사를 실시하였다. 백인 환자는 추적 자료를 구할 수 없어서 한국인 환자만을 대상으로 하였다. 추적 검사의 시점은 2004년 10월을 기준으로 하였고 생존환자의 최소 추적기간은 49개월이었다.

비교 대상군의 분포를 보기 위해 표준 chi-square 테스트를 사용하여 분석하였으며 COX-2 발현과 다른 인자와의 상관관계를 비교하기 위해서 two-tailed 피어슨 상관계수를 이용한 분석을 시행하였다. 그리고 단변량 생존분석에서 무병생존율은 Kaplan-Meier 방법을 사용하였고 생존곡선간

의 차이는 log-rank test를 사용하였다. 그리고 p값이 0.05 이하인 경우는 통계적인 의미가 있는 것으로 평가하였으며 통계는 SPSS software package (version 10.0 SPSS inc, Chicago, IL)를 사용하였다.

결 과

대상환자의 분포는 Table 1과 같았다. 양측 환자들의 나이의 중앙값은 37세였고 한국인 22세 환자와 같은 나이의 백인 환자를 구할 수 없었던 경우를 제외하고는 나이가 일치 하였다. 한국인은 24예에서 변형 광범위 유방절제술을 시행하고 나머지는 유방보존술을 시행하였으며 백인의 재료는 예일대 치료방사선과에서 조직면역화학 연구를 위해 보관 중이던 파라핀블록을 우선적으로 사용하였으므로 두 군간에 유의한 차이는 나지 않았지만 한국인이 T3 병기가 약간 많았다. 그리고 림프절 전이의 양성 비율도 유의하게 많았다. 백인 대상 환자 중 일부는(12명) 유방보존술과 방사선치료를 시행하여도 액와림프절 절제술을 시행하지 않았다. COX-2 염색은 대상 환자 중에서 116명에서 시행이 가능하였고 유방암 조직이 작아서 명확한 판독이 어려웠던 경우를 제외하고 106명이 판독이 가능하였다. 전체적으로 32명이 COX-2 양성을 보였으며 한국인은 37.9%에서 발현을 보였고 백인은 20.8%에서 발현되었다. 한국의 젊은 여성 유방암환자에서 발현의 비율이 높았으나 통계적 유의성은 없었다(p=0.090).

COX-2와 전체 환자를 대상으로 선행연구에서 나온 결과인 HER-2/neu 과발현과의 관련성을 조사하기 위해 상관

Table 2. Correlation between COX-2 Expression and Clinical and Immunohistochemical Status of the Total Patients

Characteristics	Pearson correlation coefficients	Significance (2-tailed)
T stage	0.014	0.890
Axillary LN status	0.120	0.251
Estrogen receptor	-0.259	0.046*
Progesterone receptor	-0.117	0.241
Cyclin D1	-0.002	0.983
P53	0.004	0.970
HER-2/neu (by FISH)	0.093	0.351

*significant at the 0.05 level

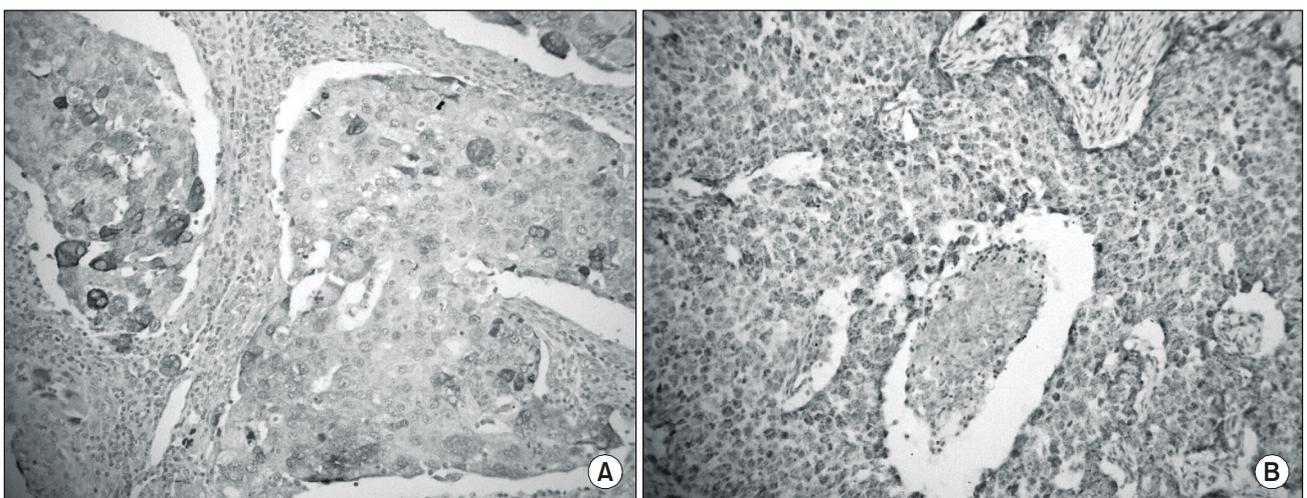


Fig. 1. A high level of COX-2 staining is detected in the cytoplasm of tumor cells in Korean patient (A) and caucasian patient (B). (x200)

관계를 조사하였으며 COX-2 발현과 HER-2/neu 과발현은 양적인 상관관계가 관찰되었으나 통계적인 유의성은 없었다. 그리고 종양의 T 병기와 림프절 전이 여부도 종양이 클수록, 림프절 전이가 양성일 경우 COX-2 발현의 비율이 높았으나 통계적인 유의성은 없었다. 그리고 프로게스테론 수용체, 싸이클린D1, P53 에 대한 면역조직화학적 반응과의 관계도 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나 에스트로겐 수용체와는 음적인 상관관계가 존재하였다. 즉, COX-2 발현과 에스트로겐 수용체 음성과는 상관관계가 통계적으로 유의하였다(Table 2).

COX-2의 면역화학반응은 종양세포의 세포질에 균일하게 염색되었으며 정상유방조직에는 염색되지 않았고 간질 세포에는 음성이거나 약 양성 반응을 보였다(Fig. 1). 한국

인 환자들의 추적 검사기간은 49개월에서 104개월이었으며 총 15명에서 치료에 실패하였고 국소재발은 9명, 원격 전이는 10명(4명은 국소재발과 원격전이 동시에 발견)이었다. 환자의 임상적, 면역조직화학적 인자들과 생존율을 분석한 결과 선행 연구의 결과처럼 T-병기, 림프절 전이 개수(Fig. 2), FISH 염색 결과(Fig. 3)에 유의한 무병생존율의 차이를 발견할 수 있었으나 COX-2 발현에 따른 차이는 COX-2 양성인 환자의 5년 무병생존율이 각각 67.9%와 81.6%로 COX-2 양성인 환자가 생존율이 나빴으나 통계적인 유의성은 관찰되지 않았다(Fig. 4).

고안 및 결론

Cyclooxygenase-2 (COX-2)는 프로스타글란딘 합성에 관여하는 효소로 특히 Arachidonic acid로부터 프로스타글란딘 G2로의 전환에 중요한 역할을 하는 효소이다. Arachidonic acid는 20개의 탄소 중합 불포화지방산으로 이루어진 프로스타글란딘의 전구물질로 포스포리파아제 A₂에 의해 자유 Arachidonate가 되며 그 다음 단계로 COX에 의해 산소분자가 불완전한 중간 산물인 프로스타글란딘 G₂에 작용하며 역시 COX에 의해 프로스타글란딘 H₂로 바뀐다. COX에는 2가지 동형체인 COX-1과 COX-2가 있는데 COX-1은 대부분의 조직에 존재하며 위 점막을 유지하거나 콩팥의 혈액 흐름을 조절하는 등 정상적인 생리적 기능을 조절하는데 비해 COX-2는 정상적인 조직에는 거의 존재하지 않는다. 즉, 프로스타글란딘의 중합성장인자, 암 촉진제, 호르몬, 박테리아 엔도톡신, 사이토카인 등의 외부 자극에 새로 유도되고 합성되어 염증 등의 증세를 일으키

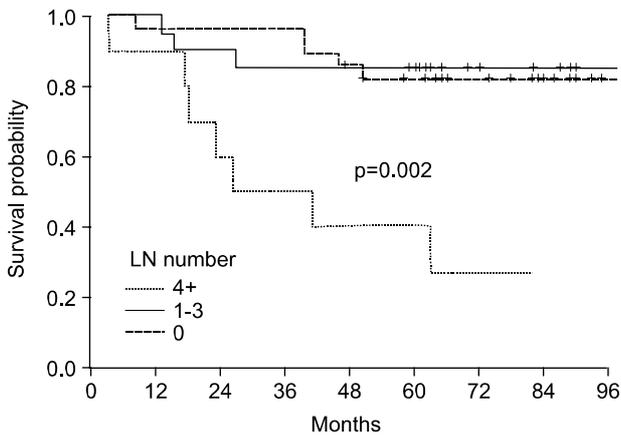


Fig. 2. Estimated disease free survival rate of young Korean patients stratified by axillary lymph node metastasis status.

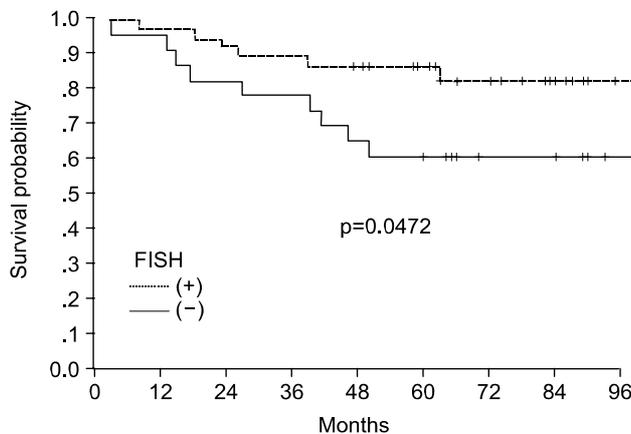


Fig. 3. Disease free survival probabilities of young Korean patients according to HER-2/neu status by fluorescence in situ hybridization.

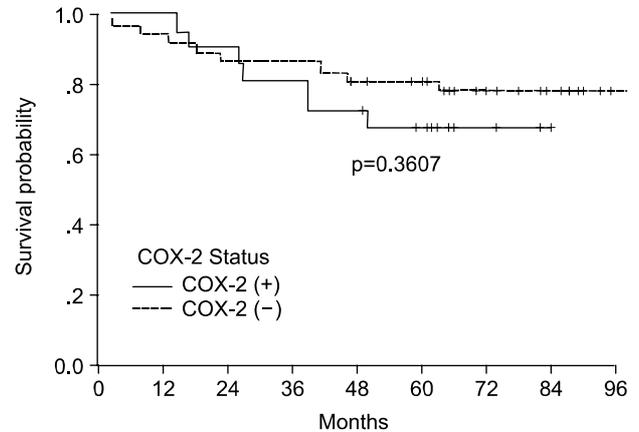


Fig. 4. Survival analysis of young Korean patients with breast carcinoma according to expression levels of cyclooxygenase-2.

고 암의 발생기전에도 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 여러 연구 결과에서 대장암, 유방암, 식도암, 자궁암, 폐암, 유암 등에서 COX-2의 발현이 증가되어 있고 Metalloproteinase 등의 합성에도 관여하며, 혈관성장인자의 형성이나 미세혈관의 형성에 관계한다고 알려져 있다.

암의 발생에 관한 COX-2의 원인 결과에 관한 직접적인 유전적인 연구로 유선조직에서 과발현된 인간의 COX-2를 형질전환시킨 쥐에서 연구한 바에 의하면 다산한 암컷 쥐들은 유선조직에서 과증식, 이상증식, 그리고 전이성 종양으로 전환되는 비율이 높았다고 하며 이러한 관찰은 COX-2가 암의 발생에 관여한다는 충분한 근거가 되고 있다. 그리고 약물학적인 증거로서 COX-2에 대한 선택적 억제제인 celecoxib나 rofecoxib 등은 창자, 유방, 폐 등에서 암의 형성을 억제하고 두경부, 대장, 유방, 위암 등에서 이미 발생된 암의 성장을 억제하기도 한다.

유방암에 대한 연구로는 Soslow 등²¹⁾이 침윤성 유방암과 상피내암의 56%에서 면역조직화학적 발현을 발견하였고 암 세포에서는 중간 또는 강한 발현이 있었지만 주위의 암이 아닌 조직에서는 거의 발현이 안 된다고 하였다. 따라서 이 연구의 결과는 COX-2 발현이 침윤성 암으로의 발전의 초기에 생기는 현상임을 나타내고 있다. 그리고 Parrett 등²²⁾도 역전사 중합사슬반응을 통하여 유방암 조직의 100%에서 COX-2 발현을 발견하였으며 정상적인 유방조직에서는 발현을 찾을 수 없었다.

유방암에서 COX-2 발현과 임상적, 병리적, 면역조직화학적 인자들과의 관계도 많이 연구되고 있다. Singer-Ranger 등¹⁴⁾은 COX-2와 VEGF mRNA 가 관계가 있지만 종양의 크기, 림프절 전이, 호르몬 수용체 상태와는 관련성이 없다고 하였으며 Soslow 등²¹⁾은 분화가 나쁜 암과 COX-2 발현이 적은 암과 관계가 있다고 하였고, Ristimaki 등¹⁶⁾은 37.4%의 유방암에서 COX-2단백질의 발현을 관찰할 수 있었고 종양의 크기, 조직학적 분화도, p53 발현, 호르몬 수용체 음성 등과 유의한 관계를 관찰할 수 있었다. Denkert 등²³⁾도 36%에서 COX-2발현을 관찰하였고 림프절 전이, 종양의 크기, 분화도, 혈관 침범, 에스트로겐 수용체 음성 등과 유의하게 관련성이 있다고 하였다.

COX-2의 예후인자로서의 역할에 관해서도 많은 연구가 시행되었는데 Costa 등¹⁸⁾은 유방암에서 COX-2가 나쁜 예후인자와 관계가 있다고 하였으며 Spizzo 등²⁰⁾도 COX-2와 Ep-CAM의 과발현이 생존율에 영향을 미치며 Ristimaki 등¹⁶⁾은 1,576 명의 침윤성 유방암 환자에서 COX-2 발현이 나쁜 예후인자일 뿐만 아니라 에스트로겐 수용체 양성, p53 음성, HER-2/neu 음성 등의 환자에서도 COX-2발현 시 유

의하게 예후가 나쁘다고 하였다. 그리고 유방암에 관한 국내의 연구로는 남 등²⁴⁾이 COX-2 발현이 액와림프절 전이와 HER-2/neu 과발현과 관계가 있으며 안 등²⁵⁾도 COX-2가 HER-2/neu 과발현과 관계가 있으며 COX-2발현 자체는 예후인자가 아니나 HER-2/neu와 같이 발현된 경우는 나쁜 예후인자로 작용한다고 하였다. 그리고 송 등²⁶⁾은 콩의 성분 중의 하나인 Genistein에 의한 COX-2 발현 억제로 유방암의 예방이나 억제가능성을 시사하였다.

COX-2와 방사선과의 관계에 관해서는 기초와 임상 모두 연구가 많이 이루어지지 않았다. 표 등²⁷⁾은 COX-2 발현하는 세포에서 COX-2억제제 중의 하나인 NS-398가 방사선에 미치는 영향이 더 많다고 하였으며 celecoxib와 방사선의 연구에서도 COX-2 과발현된 세포에 celecoxib가 방사선치료의 효과를 증가시킨다고 하였다.²⁸⁾방사선치료와 환자의 예후와 관련된 연구로는 김 등²⁹⁾이 방사선치료를 시행한 자궁경부암 환자에서 COX-2 발현이 원격전이에 관계가 있다고 하였으며, 비인강암의 방사선치료 결과에서도 김 등³⁰⁾은 COX-2가 국소재발이나 원격적이에 나쁜 영향을 미친다고 하였으며 O'Connor 등³¹⁾은 유방절제술과 방사선치료를 시행한 침윤성 유방암 환자에서 COX-2 발현이 예후에 나쁜 영향을 미친다고 하였으며 특히 40세 이하에서 COX-2 발현의 비율이 높다고 하였다.

유방암에서 COX-2와 HER-2/neu 발현의 상관관계에 대해서도 여러 기관에서 연구가 시행되었다. Half 등¹⁵⁾은 침윤성 유방암과 주위의 상피내암에서 COX-2와 HER-2/neu 발현의 상관관계를 찾지 못하였다고 했지만 Ristimaki 등¹⁶⁾은 HER-2/neu 유전자 증폭과 밀접한 관계가 있다고 하였고, Subbaramaiah 등¹⁷⁾은 유방암 세포주에서의 COX-2와 HER-2/neu 발현의 밀접한 관계가 생체내에서도 적용될 수 있을 것이라 하였고 Benoit 등³²⁾은 HER-2/neu 양성 종양에서 COX-2가 과발현될뿐만 아니라 역으로 COX-2와 그 효소의 산물인 PGE2가 HER-2/neu의 발현을 증진시킨다고 하며 COX-2를 억제하면 HER-2/neu의 단백질이 줄어들고 항암제의 치료에 대한 감수성이 높아지며 HER-2/neu억제제인 trastuzumab에도 증강된 효과를 기대할 수 있다고 하였다. 그리고 Simeone 등³³⁾은 HER-2/neu가 4-HPR 세포자멸사를 유발하는 데 중요한 기전이며 이것이 HER-2/neu 과발현된 유방암에서 새로운 항암제의 역할을 할 수 있을 것이라고 하였고 실제로 HER-2/neu가 과발현된 쥐에서 celecoxib가 유방암으로의 발전을 막는다고 했으며³⁴⁾ 최근에는 trastuzumab에 반응이 없는 HER-2/neu 과발현된 유방암 환자에 선택적인 COX-2 억제제인 celecoxib를 함께 투여하는 임상실험도 진행되고 있다.³⁵⁾

저자들의 선행연구에서^{12,13)} 젊은 여성 유방암 환자에서 한국인이 HER-2/neu 과발현 또는 증폭이 많은 특징이 관찰되었으므로 COX-2 도 발현의 비율이 백인에 비해서 높은지 비교하는 본 연구에서 한국인이 33%로 백인의 25%보다 발현비율이 다소 높았으나 통계적인 유의성은 없었다. 백인의 COX-2 발현 비율이 다소 낮은 것은 파라핀 조직 검체가 한국인 것보다 다소 오래되어 항원성이 감소되어서 나타난 현상일 수도 있으나 연대별 항원성의 면역화학적 연구에서 차이가 없다고 하였으므로¹²⁾ 한국인 젊은 유방암 환자는 COX-2 발현의 비율도 백인에 비해 높을 수 있으므로 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

그리고 한국인 유방암 환자에서 종양의 크기와 림프절 전이, 호르몬 수용체들과 COX-2와의 상관관계는 본 연구에서는 에스트로겐 수용체 음성과의 관계만 유의하였으나 다른 연구들에서는 HER-2/neu와도 관련성이 있다고 하였으므로^{24,25)} 많은 환자를 대상으로 젊은 여성 유방암에서의 관련성에 관한 추가적인 연구가 필요하다. Cox-2가 한국인 젊은 여성의 예후에 미치는 역할에 대해서도 다른 연구들에서는 유의한 차이를 발견하였으며 본 연구에서도 COX-2 발현한 암이 무병생존율이 낮았으나 통계적인 유의성이 없었는데 보다 많은 환자를 대상으로 한 추가적인 연구가 필요하다. 그리고 향후 치료환자의 추적 검사를 통해 COX-2의 예후인자로서의 역할을 밝히고 연구 결과 한국인 유방암, 특히 젊은 여성의 COX-2 발현율이 높고 HER-2/neu와 관련이 있고 예후가 나쁜 인자로 작용한다면, HER-2/neu에 대한 monoclonal antibody가 치료에 응용되듯이 COX-2억제제는 방사선치료에도 좋은 효과를 볼 수 있으므로 한국인 유방암 특히 HER-2/neu를 과발현하는 유방암의 예방 또는 방사선을 포함한 치료에도 잘 활용될 수 있다는 기초 자료를 제공해 줄 수 있을 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. Ministry of Health and Welfare. Annual report of the central cancer registry in Korea. Seoul: Ministry of Health and Welfare 2001
2. Hunter CP. Epidemiology, stage at diagnosis, and tumor biology of breast carcinoma in multiracial and multiethnic populations. *Cancer* 2000;88:1193-1202
3. Joslyn SA, West MM. Racial differences in breast carcinoma survival. *Cancer* 2000;88:114-123
4. Chen VW, Correa P, Kurman RJ, et al. Histological characteristics of breast carcinoma in blacks and whites. *Cancer Epidemiol Biomarker Prev* 1994;3:127-135
5. Elledge RM, Clark GM, Chamness GC, Osborne CK. Tumor biologic factors and breast cancer prognosis among

- white, Hispanic, and black women in the United States. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:705-712
6. Stanford JL, Greenberg RS. Breast cancer incidence in young women by estrogen receptor status and race. *Am J Public Health* 1989;79:71-73
7. Ownby HE, Frederick J, Russo J, et al. Racial differences in breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1985;75:55-60
8. Valanis B, Wirman J, Hertzberg VS. Social and biological factors in relation to survival among black vs. white women with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1987;9:135-143
9. Shiao YH, Chen VW, Lehmann HP, Wu XC, Correa P. Patterns of DNA ploidy and S-Phase fraction associated with breast cancer survival in blacks and whites. *Clin Cancer Res* 1997;3:587-592
10. Krieger N, avn den, Eeden SK, et al. Race/ethnicity, social class, and prevalence of breast cancer prognostic biomarkers: a study of white, black, and Asian women in San Francisco bay area. *Ethn Dis* 1997;7:137-149
11. Choi DH, Lee MH, Allen EB, Carter D, Haffty BG. Incidence of BRCA1 and BRCA2 Mutations in Young Korean Breast Cancer Patients. *J Clin Oncol* 2004;22:1638-1645
12. Choi DH, Shin DB, Lee MH, et al. A comparison of five immunohistochemical biomarkers and HER-2/neu gene amplification by fluorescence in situ hybridization in white and Korean patients with early-onset breast carcinoma. *Cancer* 2003;98:1587-1595
13. Choi DH, Lee MH, Ahn YH, et al. Characteristics of HER-2/neu oncogene in Korean Women with early-onset breast cancer by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization. *J Korean Breast Cancer Soc* 2003;6:255-62
14. Singer-Ranger G, Mokbel K. The role of cyclooxygenase-2 (COX-2) in breast cancer, and implications of COX-2 inhibition. *European J Surg Cancer* 2002;28:729-737
15. Half E, Tang XM, Gwyn K, Sahin A, Wathen K, Sinicrope FA. Cyclooxygenase-2 expression in human breast cancers and adjacent Ductal Carcinoma In Situ. *Cancer Research* 2002;62:1676-1681
16. Ristimaki A, Sivula A, Lundin J, et al. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase-2 expression in breast cancer. *Cancer Res* 2002;62:632-635
17. Subbaramaiah K, Norton L, Gerald W, Dannenberg AJ. Cyclooxygenase-2 Is overexpressed in HER-2/neu positive breast cancer. *J Biol Chem* 2002;277:18649-18657
18. Costa C, Soares R, Reis-Filho JS, et al. Cyclooxygenase 2 expression is associated with angiogenesis and lymph node metastasis in human breast cancer. *J Clin Pathol* 2002;55:429-434
19. Howe LR, Subbaramaiah K, Patel J, et al. Celecoxib, a selective cyclooxygenase 2 inhibitor, protects against human epidermal growth factor receptor2 (HER-2)/neu-induced breast cancer. *Cancer Research* 2002;62:5405-5407
20. Spizzo G, Gas G, Wolf D, et al. Correlation of COX-2 and Ep-CAM overexpression in human invasive breast cancer and

- its impact on survival. *British J Cancer* 2003;88: 674-578
21. Soslow RA, Dannenberg AJ, Rush D, et al. Cyclooxygenase-2 is expressed in human pulmonary, colonic and mammary tumors. *Cancer* 2000;89:2637-2645
 22. Parret ML, Harris RL, Joarder FS, Ross MS, Clausen KP, Robertson FM. Cyclooxygenase-2 gene expression in human breast cancer. *Int J Oncol* 1997;10:503-508
 23. Denkert C, Winzer KJ, Muller BM, et al. Elevated expression of cyclooxygenase-2 is a negative prognostic factor for disease free survival and overall survival in patients with breast carcinoma. *Cancer* 2003;97:2978-2987
 24. Nam EM, Im SA, Kim DY, et al. Increased expression of cyclooxygenase-2 in human breast cancer: relationship with HER-2/neu and other clinicopathologic prognostic factors. The 28th Annual meeting of the Korean Cancer Association 2002 abstract#23
 25. Ahn JH, Kim SB, Ahn SH, et al. Clinical value of cyclooxygenase expression in human breast carcinoma. *Cancer Res Treat* 2004;36:192-198
 26. Song H, Koo TY, Park JH, et al. Inhibition of cyclooxygenase-2 expression by Genistein in breast cancer cell-line. *J Korean Breast cancer Soc* 2003;6:277-282
 27. Pyo H, Choy H, Amorino GP, et al. A selective cyclooxygenase-2 inhibitor, NS-398, enhances the effect of radiation in vitro and in vivo preferentially on the cells that express cyclooxygenase-2. *Clin Cancer Res* 2000;6:1326-1331
 28. Pyo H, Shin YK, Kim HS, Seong J, Suh CO, Kim GE. The enhancement of radiosensitivity by celecoxib, selective cyclooxygenase-2 inhibitor, on human cancer cells expressing differential levels of cyclooxygenase-2. *J Korean Soc Ther Radiol Oncol* 2003;21:216-221
 29. Kim HJ, Wu HG, Park IA, Ha SW. High cyclooxygenase-2 expression is related with distant metastasis in cervical cancer treated with radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 55:16-20
 30. Kim JB, Wu HG, Park SW, Kim CJ, Park CI. Expression of cyclooxygenase (COX)-2 as a prognostic factor in nasopharyngeal cancer. *Cancer Res Treat* 2004;36:187-191
 31. O'Connor JK, Arent J, Lee RJ, Fischbach J, Gaffney DK. Cyclooxygenase-2 expression correlates with diminished survival in invasive breast cancer with mastectomy and radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004;58:1034-1040
 32. Benoit V, Relic B, Leval XX, Chariot A, Merville MP, Bours V. Regulation of HER-2 oncogene expression by cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2. *Oncogene* 2004;23: 1631-1635
 33. Simeone AM, Li YJ, Broemeling LD, Johnson MM, Tuna M, Tari AM. Cyclooxygenase-2 is essential for HER2/ neu to suppress N-(4-Hydroxyphenyl) retinamide apoptotic effects in breast cancer cells. *Cancer Res* 2004;64:1224-1228
 34. Lanza-Jacoby S, Miller S, Flynn J, et al. The cyclooxygenase-2 inhibitor, celecoxib, prevents the development of mammary tumors in HER-2/neu mice. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12:1486-491
 35. Dang CT, Dannenberg AJ, Subbaramaiah K, et al. Phase II study of celecoxib and trastuzumab in metastatic breast cancer patients who have progressed after prior trastuzumab-based treatment. *Clin Cancer Res* 2004;10:4062-4067

Abstract

Comparative Study of Cyclooxygenase-2 Expression and HER-2/neu Amplification in Korean and Caucasian Women with Early-Onset Breast Carcinoma

Doo Ho Choi, M.D.*, Eun Seog Kim, M.D.*, Yong Ho Kim, M.D.*, So Young Jin, M.D.[†],
Dong Wha Lee, M.D.[†] and Bruce G. Haffty, M.D.[‡]

Departments of *Radiation Oncology and [†] Pathology, College of Medicine
Soonchunhyang University, Seoul, Korea, [‡] Department of Therapeutic
Radiology, School of Medicine, Yale University, New Haven, CT, USA

Purpose: The purpose of this work was to study the differences of cyclooxygenase (COX-2) expression between Korean and Caucasian patients with early-onset breast carcinoma by immunohistochemistry. The test were analyzed to find a correlation between COX-2 and other biomarkers including HER-2/neu amplification, because we previously reported that a significant difference had been found in the expression of HER-2/neu between the two races. Furthermore, we investigated prognostic significance of COX-2 in Korean patients.

Materials and Methods: Sixty Korean women who were diagnosed breast carcinoma at 45 years old or younger and 60 Caucasian women with breast carcinoma were selected for this study. The median age of both groups was 37 years and tumor sizes were distributed evenly between the two group. Paraffin embedded blocks of primary tumor were processed for immunohistochemical staining of COX-2. The COX-2 expression was evaluated according to the percentage of positive cells and the intensity of staining. And the results were compared with the data of the previous studies to find correlation between COX-2 and other parameters and survival data.

Results: Proportion of the COX-2 expression in total patients was 27.6%. The percentage of tumors that stained positive for COX-2 in Korean and Caucasian women with early-onset breast carcinoma were 37.9% and 20.8%, respectively. The difference was statistically not significant($p=0.090$). Expression of COX-2 was not associated with several clinicopathologic parameters including HER-2/neu overexpression, but negative estrogen receptor status was correlated with significance ($p=0.046$). The 5 year disease free survival rate for patients with COX-2 expression was 67.9%, compared to 81.9% of the COX-2 negative patients and the result was statistically not significant.

Conclusions: A significant difference was not found in the expression of COX-2 between the two groups of patients with early-onset breast carcinoma. And correlation between COX-2 and other parameters was not observed except estrogen receptor negativity. Large scaled further research including radiotherapy factors will be needed to identify COX-2 as a prognostic role in patients with early-onset breast carcinoma.

Key Words: COX-2, Breast carcinoma, Early-onset