

김윤성 유방암에서 Cyclooxygenase-2 발현의
예후 인자로서의 효용성

연세대학교 대학원
의 학 과
이 일 균

김윤성 유방암에서 Cyclooxygenase-2 발현의
예후 인자로서의 효용성

지도교수 이 희 대

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2007년 12 월

연세대학교 대학원

의 학 과

이 일 균

이일균의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

연세대학교 대학원

2007년 12월

감사의 글

많은 분들의 도움으로 부족함이 많지만 하나의 논문을 완성하게 되었습니다. 이 논문의 계획에서부터 완성에 이르기까지 많은 지도와 배려를 베풀어 주신 이희대 선생님께 깊은 감사와 존경을 올립니다.

그리고 논문이 완성될 수 있도록 세심한 자문을 기울여 주신 정우희 선생님, 조재용 선생님께 진심으로 감사의 말씀을 드립니다. 또한 논문의 진행과정에 있어 많은 도움을 주신 김희정 선생님께도 감사의 마음을 전합니다.

끝으로 학업과 연구에 정진 할 수 있도록 많은 기도와 성원을 해주신 부모님과 아내, 그리고 외동딸 예빈이를 돌보시느라 고생하신 장모님께도 깊은 고마움을 느끼며 이 논문을 바칩니다.

이 일 균 씬

차 례

국문요약	1
I. 서론	2
II. 대상 및 방법	4
1. 연구대상	4
2. 연구방법	4
가. 병리학적분류	4
나. 조직미세배열 및 면역조직화학염색	6
다. COX-2 면역염색의 결과 판정	6
라. 통계학적 분석	6
III. 결과	8
1. COX-2 발현 결과	8
2. COX-2 에 따른 임상병리학적 인자들의 무병생존율, 전체생존율과 관계 .11	
IV. 고찰	13
V. 결론	16
참고문헌.	17
영문요약	22

그림 차례

그림 1. COX-2 발현에 따른 생존곡선	10
-------------------------------	----

표 차례

표1. 대상환자의 임상병리학적 특성	5
표2. COX-2발현과 임상 병리학적 인자와의 상관성.....	9
표3. COX-2발현에 따른 무병생존율 및 전체 생존.....	9
표4. COX-2발현과 임상병리학적 인자에 따른 무병생존율.....	11
표5. COX-2발현과 임상병리학적 인자에 따른 전체 생존율	12

침윤성 유방암에서 Cyclooxygenase-2 발현의 예후 인자로서의 효용성

배경: Cyclooxygenase(COX-1, COX-2)는 arachidonic acid를 prostaglandin으로 전환시키는 주요 효소이다. COX-2는 성장인자, 발암유전자, 발암물질과 cytokine 등의 자극에 의해서 발현되어 악성 종양의 성장, 침윤 및 전이 등 전반에 걸쳐 관여 한다고 알려져 있다. 저자들은 침윤성 유방암에서의 COX-2의 발현과 기존의 알려진 여러 임상 병리학적 인자들과의 상관성을 조사하고 유방암 환자들의 무병생존율 및 전체 생존율의 예후 인자로서의 효용성을 알아보려고 하였다. **대상 및 방법:** 침윤성 유방암으로 수술 받은 293명의 환자들의 종양 조직을 조직미세배열과 면역조직화학염색을 통하여 COX-2 발현도를 조사하였다.

결과: 전체 293예 중 116예(39.59%)에서 COX-2 양성으로 관찰되었으며, 유방암의 임상 및 병리학적 인자들과의 상관성 조사에서는 조직학적 등급($p=0.004$), 호르몬 수용체의 음성도(ER: $p=0.002$ / PgR: $p=0.024$)와 통계적으로 유의성 있게 나타났다. 그러나, 진단 당시의 나이, 종양의 크기, 액와부 림프절의 전이상태, 광범위 관내암종성분, 종양주위의 림프혈관침윤, HER-2/neu 증폭, 무병생존율, 전체생존율과는 통계적 유의성은 없었다. 하위그룹 분석에서는 에스트로겐 수용체 양성인 그룹에서 COX-2발현이 생존율에 더욱 나쁜 영향을 주는 것으로 조사되었다. **결론:** 본 연구결과에서 COX-2발현이 불량한 예후를 가지는 유방암에서 더욱 흔하게 나타나는 것으로 관찰되었다. 그러나, COX-2 발현과 유방암 환자의 예후와의 관계를 확실히 정립하기 위해서는 더욱 광범위한 연구가 필요하리라 사료된다

핵심되는 말: cyclooxygenase-2, 유방암, 예후 인자

침윤성 유방암에서 Cyclooxygenase-2 발현의 예후 인자로서의 효용성

<지도교수 이 회 대>

연세대학교 대학원 의학과

이 일 균

I. 서 론

Cyclooxygenase(COX) 는 arachidonic acid를 prostaglandins(PGs)으로 전환시키는 주요 효소이다. COX는 두 개의 isoform으로 존재하는 것으로 알려지고 있는데, COX-1은 대부분의 정상조직에서 지속적으로 발현되어 주로 위장관의 점막의 보호, 신장 혈류 조절 및 혈소판 응집 조절 역할을 한다. 하지만, COX-2는 정상조직에서는 거의 발현되지 않고 성장인자, 발암유전자, 발암물질과 cytokine 등의 세포 외적 자극에 의해서 염증 또는 종양 조직에서 발현되며,¹ 여러 악성 종양의 성장, 침윤 및 전이 등 전반에 걸쳐 관여한다고 알려지고 있다.² 이러한 점은 COX-2가 암의 예방 및 치료에 있어 표적이 될 수 있음을 시사 하는 소견이며, 실제로 비스테로이드 항염증 약제 (non-steroidal anti-inflammatory drug; NSAIDs)의 사용이 대장암의 예방, 치료에 효과가 있음이 여러 연구에서 보고 된 바 있다.^{3,4} 비 위장관 악성 종양에서의 NSAIDs의 사용과의 연관성은 비교적 덜 알려져 있으나, NSAIDs의 사용이 유방암의 위험도 또한 감소시키는 것으로 관찰되었다.⁵

유방암에 있어 COX-2는 최근의 연구들에서 COX-2발현이 유방암의 불량한 예후와 연관성이 있으며^{6,7} 유방암 환자에서 COX-2 mRNA 와 protein 발현이 증가되어 있는 것으로 보고 되었다.⁸⁻¹⁰ 또한, 동물 실험을 통해서도 COX-2가 유방암의 형성과정(carcinogenesis)

에 직접적으로 관여를 하고 있는 것으로 조사되기도 하였다.¹¹ 하지만, 아직 유방암에 있어 COX-2에 관한 광범위한 연구가 이루어 지지 못하여 COX-2의 예후 인자로서의 가치가 확립되지는 못하였다. 이에 본 연구에서는 COX-2와 기존의 알려진 유방암의 임상 및 병리학적 인자들과의 연관성과 생존함수를 조사하여 유방암에 있어 COX-2의 예후 인자로서의 효용성을 알아보고자 하였다.

II . 대상 및 방법

1. 연구 대상

1996년 1월부터 2000년 12월까지 연세대학교 의과대학 영동세브란스병원에서 침윤성 유방암으로 수술 받은 환자들 중 수술년도에 따라 무작위로 선택된 321명의 파라핀 포매 조직을 이용하였다. 이 중 2005년 12월까지 외래 추적 관찰이 되었으며, 한국중앙암등록본부 자료를 이용하여 사망이 최종 확인된 293명의 환자를 대상으로 하였다. 수술 전 원격전이가 있거나 수술 전 항암화학요법이 이루어진 환자는 제외 하였다. 2005년 12월까지 평균 추적 관찰기간은 80.66 ± 24.53 개월 이었으며, 이 가운데 45명의 환자가 사망(15.4%)하였으며, 59명의 환자가 국소·구역재발 또는 전신재발(20.1%)을 하였다.

2. 연구 방법

가. 병리학적분류

선택된 환자의 임상기록과 병리진단기록을 재 검색하여 환자의 나이, 종양의 크기, 림프절 전이 유무, 조직학적 등급, 광범위 관내암중성분(extensive intraductal component; EIC), 림프혈관침윤, 호르몬 수용체 상태, HER-2/neu 상태를 확인 하였다. 종양의 크기는 2cm 이하와 2.1cm 이상으로 분류하였고, 림프절 전이는 전이가 없는 경우, 1-3개 있는 경우, 4개 이상으로 분류하였다. 조직학적 등급은 Scarff-Bloom-Richardson scoring system의 Nottingham modification을 이용 하였다.¹² (표1)

표1. 대상환자의 임상 및 병리학적 특성

Characteristic		Number of patients	%
All patients		293	100
COX-2	negative	177	60.4
	positive	116	39.6
Age (yr)	<50	198	67.6
	≥50	95	32.4
Tumor size(cm)	≤2	105	35.9
	>2	188	64.1
Nodal status	negative	140	47.8
	1 - 3	94	32.1
	≥4	59	20.1
Histologic grade	I	69	23.5
	II	117	40.0
	III	89	30.4
	unknown	18	6.1
EIC	negative	212	72.4
	positive	56	19.1
	unknown	25	8.5
L/Vi	negative	254	86.7
	positive	33	11.3
	unknown	6	2.0
ER	negative	139	47.4
	positive	154	52.6
PgR	negative	158	53.9
	positive	135	42.1
HER-2	negative	95	32.4
	positive	123	42.0
	unknown	75	25.6

나. 조직미세배열(Tissue microarray; TMA) 및 면역 조직 화학 염색.

COX-2의 면역조직화학 염색은 enzyme-conjugated polymer (DAKO, EnVision/HRP, Carpinteria, CA)를 이용하여 시행 하였다. 선정된 donor 블록을 2mm core needle 을 이용하여 중앙 부위의 두 군데를 recipient block으로 이식, 배열(1개의 TMA 블록에 48개의 spot을 심었으며, 각각 모서리에는 정상 조직을 배치)한 다음 4µm 두께로 박 절하여 silane coated slide 위에 조직 절편을 부착 시킨 후 60°C 오븐에서 1시간 건조 시켰다. 자일렌(Xylene)에서 탈 파라핀 과정과 고농도 알코올, 증류수까지의 함수과정을 거치고, 항원부활처리를 위해 10mM 구연산 완충액(citrate buffer pH 6.0)에 넣고 10분간 전자레인지에서 끓인 후 실온에서 10분간 식혔다. 슬라이드는 내인성 과산화효 소 활성을 저지하기 위하여 0.3% H₂O₂로 15분간 처리하고, Tris-Buffered Saline(TBS)에 5분간 세척 후 항체를 실온에서 1시간 반응시켰다. Cox-2의 일차항체로는 rabbit monoclonal antibody, 1:100, NeoMarkers, CA, USA)를 이용하였으며, 일차항체 처리 후 슬라이드를 TBS로 3회 세척 후 ENV(EnVision/HRP, Rabbit)로 실온에서 30분간 반응 시켰다. 반응이 끝난 슬라이드는 TBS로 세척한 후 NovaRED substrate kit(VECTOR Laboratory, Burlingame, CA)를 이용하여 현미경 검경 하에서 발색한 후 증류수에서 발색을 정지, Harris hematoxylin으로 대조 염색을 시행하고, 탈색과 현색 과정을 거 친 후 탈수, 투명, 봉입과정을 거쳐 검경 하였다.

다. COX-2 면역염색의 결과 판정

각각의 spot 에서 염색이 되지 않은 경우를 0점, 염색된 세포의 수가 50% 이하이고 세포질(cytoplasm) 염색강도가 중간 이하인 경우를 1점, 염색된 세포의 수가 50% 이상이거나 세포질 염색강도가 중간 이상인 경우를 2점으로 하여, 두 개의 spot의 점수를 더 하여 3점 이상인 경우를 COX-2발현의 양성이라고 판정하였다.

라. 통계학적 분석

Window 용 SPSS(version 11.0)통계프로그램을 이용하였으며, Chi-square test를 통하여 COX-2의 발현과 여러 임상병리학적 인자들과의 상관성을 조사하였으며, COX-2에 따른 생존곡선을 알아보기 위하여 Kaplan-Meier method를 이용하였다.

III. 결 과

1. COX-2 발현 결과

COX-2는 전체 293예 중 116예(39.59%)에서 관찰되었다. 유방암의 임상병리학적 인자들과의 상관성 조사에서는 조직학적 등급($p=0.004$), 호르몬 수용체의 음성도(ER: $p=0.002$ /PgR: $p=0.024$)와의 경우에서 통계적으로 유의성 있게 나타났으며, ER음성인 예에서 48.9%, ER양성의 경우 31.2%, PgR 음성인 예에서 45.6%, PgR양성인 예에서 32.6%로 호르몬 수용체 발현과 역상관성을 나타냈다.(표2)

종양의 크기가 클수록, 액와부 림프절 전이의 개수가 증가할수록 COX-2 양성의 비율이 높게 나타났으나 통계적 유의성은 없었다. 또한, EIC양성인 경우, 림프혈관침윤이 있는 경우, HER-2/neu 증폭이 있는 경우 역시 COX-2 양성 비율이 높았지만 통계적 의미는 없었다.(표2) 추적 관찰기간 중 재발(국소·구역 및 전신재발)을 한 예는 COX-2 음성의 경우 177명 중 32명(18.1%) 이었으며, COX-2 양성인 경우는 116명중 27명(23.3%)이었다 ($p=0.334$). 사망한 예는 COX-2 음성의 경우 177명중 26명(14.7%), COX-2 양성인 경우 116명 중 19명(16.4%) 이었다(무병생존율의 경우 $p=0.334$, 전체생존율의 경우 $P=0.774$).(표3, 그림1)

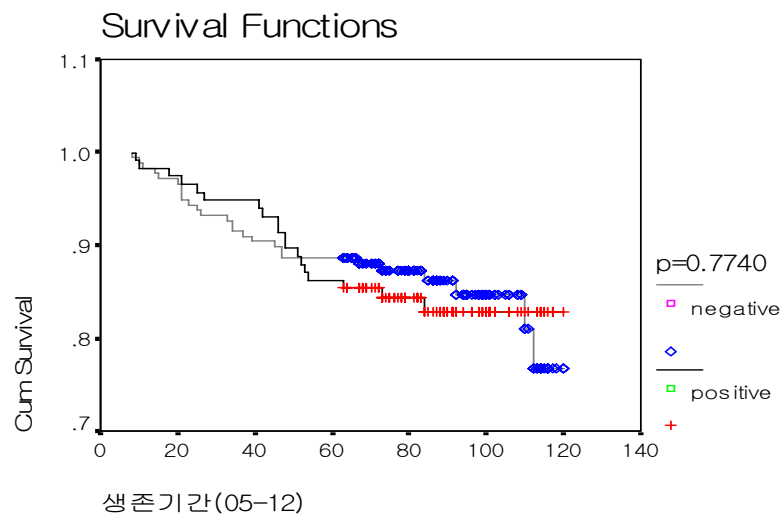
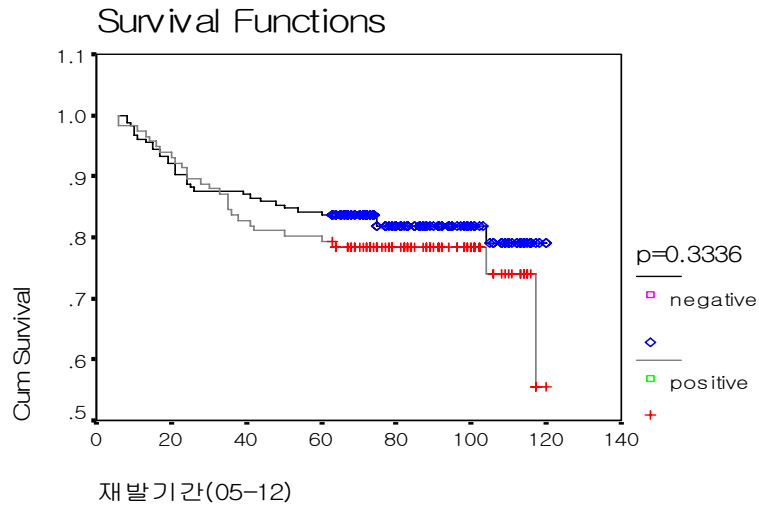
표2. COX-2발현과 임상 및 병리학적 인자와의 상관성

Clinicopathologic parameter		COX-2 staining (positive/total)	COX-2 positive (%)	p- value
Age (yr)	<50	74/198	37.4	0.263
	≥50	42/ 95	44.2	
Tumor size(cm)	≤2	41/105	39.0	0.887
	>2	75/188	39.9	
Nodal status	negative	52/140	37.1	0.215
	1 - 3	36/ 94	38.3	
	≥4	28/ 59	47.5	
Histologic grade	I	18/ 69	26.1	0.004
	II	52/117	44.4	
	III	44/ 89	49.4	
EIC	negative	83/212	39.2	0.456
	positive	25/ 56	44.6	
L/Vi	negative	96/254	37.8	0.129
	positive	17/ 33	51.5	
ER	negative	68/139	48.9	0.002
	positive	48/154	31.2	
PgR	negative	72/158	45.6	0.024
	positive	44/135	32.6	
HER-2	negative	36/ 95	34.8	0.171
	positive	58/123	46.6	

표3. COX-2발현에 따른 무병생존율 및 전체 생존율

		Patient		Recurrence		Death	
		No.	No.(%)	p-value	No.(%)	p-value	
COX-2	negative	177	32(18.1)	0.3336	26(14.7)	0.7740	
	positive	116	27(23.3)		19(16.4)		

그림1. COX-2 발현에 따른 생존곡선



2. COX-2에 따른 임상병리학적 인자들의 무병생존율, 전체생존율과 관계

COX-2에 따른 액와부 림프절 전이 상태, 조직학적 등급과 호르몬 수용체 상태의 무병생존율, 전체생존율의 분석에서는 에스트로겐 수용체 양성인 그룹에서 COX-2가 생존율에 가장 높게 영향을 미치는 것으로 나타났다(무병생존율의 경우 $p < 0.0001$, 전체생존율의 경우 0.0002). (표 4.5)

표4. COX-2발현과 임상 및 병리학적인자에 따른 무병생존율

Clinicopathologic factor		No. of COX-2 (+)	No. of recurrence(%)	p-value
		No. of COX-2 (-)	No. of recurrence(%)	
No. of positive LN	0	52	5 (10)	0.5794
		88	10(11)	
	1 - 3	36	7(19)	0.8350
		58	10(58)	
	≥4	28	15(54)	0.4319
		31	12 (39)	
Histologic grade	I	18	0(0)	0.2301
		51	3(6)	
	II	52	13(25)	0.0475
		65	10(15)	
	III	44	14(32)	0.1497
		45	19(42)	
ER	negative	68	10(15)	0.0075
		71	24(34)	
	positive	48	17(35)	<0.0001
		106	8(8)	
PgR	negative	72	9(13)	0.2069
		86	17(20)	
	positive	44	18(41)	0.0024
		91	15(16)	

표5. COX-2발현과 임상 및 병리학적인자에 따른 전체 생존율

Clinicopathologic factor		No. of COX-2 (+)	No. of recurrence(%)	p-value
		No. of COX-2 (-)	No. of recurrence(%)	
No. of positive LN	0	52	2(4)	0.2029
		88	8(9)	
	1 - 3	36	4(11)	0.7060
		58	8(14)	
	≥4	28	13(46)	0.4384
		31	10(32)	
Histologic grade	I	18	0(0)	0.3985
		51	2(4)	
	II	52	9(17)	0.7166
		65	9(14)	
	III	44	10(23)	0.2893
		45	15(33)	
ER	negative	68	8(12)	0.0052
		71	22(31)	
	positive	48	11(23)	0.0002
		106	4(4)	
PgR	negative	72	7(10)	0.2076
		86	14(16)	
	positive	44	12(27)	0.0501
		91	12(13)	

IV. 고 찰

유방암환자에게 있어 예후를 결정하는 중요한 인자는 종양의 크기와 림프절 전이 여부이며, 그 외에도 종양의 크기, 호르몬 수용체의 여부, 조직학적 등급, HER-2, p53, ki-67등이 알려져 있다. 하지만, 최근 환자 개개인에 대한 맞춤 치료의 필요성이 점차 증대되고 있어, 그에 따른 적절한 새로운 표적을 찾아 내기 위한 많은 연구들이 진행되고 있다.

COX-2는 암의 전구 병변 에서부터 전이과정까지의 암 형성(carcinogenesis)의 전반적인 과정에 걸쳐 발현 된다고 알려지고 있고,² 실제로 COX-2 발현 억제제(NSAID)를 이용하여 향상된 대장암의 예방 및 치료 결과들을 보고한 여러 연구들이 있어,^{3,4} 유방암의 치료에 있어서도 COX-2의 발현과 그 억제제를 이용한 연구들이 이루어지고 있다. 본 연구의 COX-2의 발현 정도는 전체 293예 중 116예(39.59%)에서 관찰되었으며, 이는 다른 연구들에서와 유사한 결과이다.^{6,8,9} 하지만, COX-2의 발현 정도는 4.5% 에서 85%로 매우 다양하게 보고 되고 있는데^{8-10,13,14} 이러한 COX-2발현의 다양성은 각 연구자들마다 사용한 항체가 다르고 COX-2의 면역 반응을 평가하는 판정 기준(scoring system 및 cut-off value)이 다르기 때문이라고 생각된다. 예를 들어, Kelly¹³ 등은 아주 약한 반응성을 양성이라고 판정한 반면, Boland¹⁴ 등은 중등도 이상의 반응성이 있는 경우에만 양성으로 판정하였다. 본 연구 역시 중등도 이상의 반응성이 있는 경우를 양성으로 판정하였다. 저자들은 COX-2의 면역조직화학 염색과정 중 TMA 방법을 이용하였는데, TMA는 1998년 미국 국립 암 연구소의 Kononen¹⁵ 등이 개발한 방법으로 기초 및 임상연구, 특히 진단과 예후 및 예측인자를 찾기 위해 대량의 조직을 이용하여 DNA, RNA, proteomics 등 분자생물학적인 연구를 하는데 있어서 매우 경제적인 고속처리(high throughput)기법인 반면, 대규모의 면역조직화학염색, 형광제자리부합화(fluorescence in situ hybridization; FISH), RNA ISH 등의 연구를 소량의 시약을 이용하여 비교적 빠르고 쉽게 처리하는 장점은 있지만,¹⁶ donor 블록의 극히 일부분이 전체 특징을 대표하는데 한계점이 있으며, 박

절시 병변이 소실되는 spot이 있을 수 있고, 면역 염색시 spot의 직경이 작은 경우 edge artifact로 인하여 위 양성인 될 수 있는 단점이 있다. 또한, spot 직경의 선택이 문제가 될 수 있는데 가장 작은 것이 0.6mm이다. Spot 직경이 크다고 해서 donor에 대한 대표성이 커지는 것은 아니다.¹⁷ 본 연구에서는 2mm 직경으로 두 군대를 채취해서 판정 하였다.

유방암에 있어 COX-2의 예후 인자로서의 가능성에 대하여 상반된 결과들을 보여주는 연구들이 있으나,^{13,18,19} 대체로 호르몬 수용체의 음성도, HER2양성도, 종양의 크기가 큰 경우, 원격 전이 등 불량한 예후 인자들과의 상관성이 있는 것으로 보고되고 있다.^{6,7,14,20,21} 하지만, 이러한 기존의 연구들은 Ristimäki⁶ 등의 연구 이외는 소규모의 환자들을 대상으로 한 것이기 때문에 그 결과의 재현성이 확립되기 위해서는 앞으로도 많은 연구가 필요한 실정이다. 본 연구에서는 임상병리학적 인자들과의 상관성에서 조직학적 등급, 호르몬 수용체 여부와의 관계에서 통계적으로 유의성을 나타내었으며, 진단 당시 환자의 나이, 종양의 크기, 림프절 전이 여부, 조직학적 등급, EIC, 림프혈관침윤, HER-2/neu와는 통계적으로 유의성이 없었다. 그러나, 본 연구에서 비록 통계적 유의성은 검정 되지 않는 못 하였으나, 림프절 전이가 많을수록, 림프혈관침윤이 있는 경우에서 확실히 COX-2의 양성율이 높았다. 이러한 결과는 COX-2가 혈관신생(angiogenesis)과 림프절 전이와 관계가 있음을 보고한 Costa²¹ 등의 연구에서도 알 수가 있으며, 그들은 COX-2가 종양세포의 세포외기질(extracellular matrix)과의 유착도를 감소시키며 혈관내막성장인자(vascular endothelial growth factor;VEGF)증가를 통한 혈관신생을 촉진시켜 전이를 유발한다고 설명하였다.

최근 유방암의 치료법 결정에 있어 HER-2/neu가 중요한 위치를 차지하고 있는데, 유방암에 있어 그 증폭이나 발현율이 14.6%에서 42%까지 다양하게 보고되고 있으며²² 이는 HER-2/neu가 유방암의 중요 예후 인자이며, 호르몬 치료나 화학 요법의 반응을 예측할 수 있는 중요 인자 이기 때문이다.²² Benoit²³ 등은 HER-2/neu가 발현되는 유방암에서 Ras/MAPK 경로를 통하여 COX-2의 발현과 이에 따라 만들어진 PGE2에 의해서 HER-2/neu 발현이 증가되는 HER-2/neu와 COX-2상호간의 모델을 제시하였으며, 앞서 언급한 여러 연구들에서 그 연관성이 조사되기도 하였다.^{6,14,20} 그러나, 본 연구에서는 COX-2 양성인 경

우가 HER-2/neu 양성인 예에서 46.6%로 HER-2/neu 음성인 경우(34.8%)보다 높게 나타났지만 통계적 유의성은 없었다.

서론에서 밝혔듯이 본 연구의 목적은 COX-2의 발현이 유방암의 예후 인자로서의 가치를 확인하는 것이다. COX-2 발현에 따른 무병생존율·전체생존율은 비록 COX-2양성인 경우에서 관찰기간 동안 재발이나 사망이 많았지만 통계적 유의성은 없었다. 하지만, 하위그룹(subgroup)분석에서는 COX-2가 무병생존율·전체생존율에 미치는 영향이 더욱 크게 나타났다. COX-2발현에 따른 임상 병리학적 인자들의 무병 생존율·전체 생존율 분석에서는 COX-2의 발현이 에스트로겐 수용체(estrogen receptor; ER) 음성과도 상관성이 있는 것과는 다르게 ER음성 그룹에 비하여 ER양성 그룹에서 더욱 생존율이 나쁜 것으로 관찰되었으며 이 점은 Ristimäki⁶ 등의 연구에서도 관찰되었다. 하지만, 그들의 연구에서는 본 연구와는 달리 ER음성인 그룹에서는 COX-2발현 정도에 따른 무병생존율의 통계학적 의미는 관찰되지 않았다. 또한 Witton¹⁹ 등의 연구에서는 ER음성 유방암 환자에서 COX-2 발현이 더욱 나쁜 예후와 관련이 있다고 보고 하였다. 이러한 결과들은 COX-2와 호르몬 수용체 발현과의 관계가 아직 명확하지 못함을 보여주는 것이라 하겠다. 그러나, ER양성 그룹에서 더욱 생존율이 나쁜 것은 ER양성인 유방암 조직에서 COX-2발현이 PGE₂의 합성을 촉진 시키고 그에 따라 aromatase 활성을 통하여 에스트로겐 합성을 증가시키기 때문에²⁴ 종양세포의 성장을 촉진 시키는 환경을 제공하였다고 여겨진다. 한편, aromatase 발현이 에스트로겐 생성을 촉진시키고 호르몬 수용체의 발현은 성 호르몬(sex steroid hormone)으로부터 유도될 수 있으며,²⁵⁻²⁷ 유방암에서 COX-2 발현과 aromatase mRNA 발현이 매우 밀접한 관계가 있음이 관찰되었다.²⁸

그리고, 최근에는 호르몬 수용체 양성인 폐경된 유방암 환자의 수술 전 치료 시도에서 COX-2억제제(celecoxib)와 아로마타제 억제제(aromatase inhibitor)의 병용요법이 아로마타제 억제제 단독 요법에 비하여 효과적임이 발표되기도 하였는데,²⁹ 이러한 COX-2와 호르몬 수용체와의 연관성과 유방암의 치료에 있어 COX-2억제제의 사용을 위해서는 아로마타제 억제제와의 연구뿐만이 아니라 타목시펜과의 병용요법을 통한 조사도 필요하리라 생각된다.

V. 결 론

본 연구에서 COX-2의 발현 정도는 전체 293예 중 116예에서 관찰되어 39.59%로 나타났다. 기존의 유방암의 임상병리학적 인자들과의 상관성 조사에서는 조직학적 등급, 호르몬 수용체 여부가 통계학적 의미가 있는 것으로 조사 되었다. 비록, COX-2에 다른 생존함수 분석에서는 통계적 의미를 찾을 수는 없었으나, COX-2의 발현이 유방암의 불량한 예후 인자들과의 연관성이 있음을 알 수 있었다. 또한 하위그룹 분석을 통해서 COX-2의 양성인 호르몬 수용체의 음성도와 상관성이 있었으나 생존함수 분석에서는 ER음성 그룹 보다 양성 그룹에서 더욱 생존율에 큰 영향을 주는 결과를 알 수 있었다.

이러한 점은 앞으로 더 많은 연구를 통하여 유방암의 예방 및 유방암 환자의 수술 후 얻어진 각각의 자료에 따른 치료 방법 결정에 있어 COX-2 억제제 사용이 또 하나의 치료 방법으로 기대할 수 있으리라 여겨진다.

참고문헌

1. Fosslien E. Biochemistry of cyclooxygenase (COX)-2 inhibitors and molecular pathology of COX-2 in neoplasia. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2000;37:431-502.
2. Koki AT, Masferrer JL. Celecoxib: a specific COX-2 inhibitor with anticancer properties. *Cancer Control.* 2002;9:28-35.
3. Thun MJ, Henley SJ, Patrono C. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as anticancer agents: mechanistic, pharmacologic, and clinical issues. *J Natl Cancer Inst.* 2002;94:252-66.
4. Gupta RA, Dubois RN. Colorectal cancer prevention and treatment by inhibition of cyclooxygenase-2. *Nat Rev Cancer.* 2001;1:11-21.
5. Khuder SA, Mutgi AB. Breast cancer and NSAID use: a meta-analysis. *Br J Cancer.* 2001;84:1188-92.
6. Ristimäki A, Sivula A, Lundin J, Lundin M, Salminen T, Haglund C, et al. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase-2 expression in breast cancer. *Cancer Res.* 2002;62:632-5.
7. Denkert C, Winzer KJ, Müller BM, Weichert W, Pest S, Köbel M, 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;97:2978-87.

8. Soslow RA, Dannenberg AJ, Rush D, Woerner BM, Khan KN, Masferrer J, et al. COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors. *Cancer*. 2000;89:2637-45.

9. 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 Res*. 2002;62:1676-81.

10. Hwang D, Scollard D, Byrne J, Levine E. Expression of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in human breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1998;90:455-60

11. Liu CH, Chang SH, Narko K, Trifan OC, Wu MT, Smith E, et al. Overexpression of cyclooxygenase-2 is sufficient to induce tumorigenesis in transgenic mice. *J Biol Chem*. 2001;276:18563-9.

12. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991;19:403-10.

13. Kelly LM, Hill AD, Kennedy S, Connolly EM, Ramanath R, Teh S, et al. Lack of prognostic effect of Cox-2 expression in primary breast cancer on short-term follow-up. *Eur J Surg Oncol*. 2003;29:707-10.

14. Boland GP. Butt IS. Prasad R. Knox WF. Bundred NJ.

COX-2 expression is associated with an aggressive phenotype in ductal carcinoma in situ. *Br J Cancer*. 2004;90:423-9.

15. Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, Bärklund M, Schraml P, Leighton S, et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med*. 1998;4:844-7.

16. Skacel M, Skilton B, Pettay JD, Tubbs RR. Tissue microarrays: a powerful tool for high-throughput analysis of clinical specimens: a review of the method with validation data. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2002;10:1-6.

17. Packeisen J, Buerger H, Krech R, Boecker W. Tissue microarrays: a new approach for quality control in immunohistochemistry. *J Clin Pathol*. 2002;55:613-5.

18. Nakopoulou L, Mylona E, Papadaki I, Kapranou A, Giannopoulou I, Markaki S, et al. Overexpression of cyclooxygenase-2 is associated with a favorable prognostic phenotype in breast carcinoma. *Pathobiology*. 2005;72:241-9.

19. Witton CJ, Hawe SJ, Cooke TG, Bartlett JM. Cyclooxygenase 2 (COX2) expression is associated with poor outcome in ER-negative, but not ER-positive, breast cancer. *Histopathology*. 2004;45:47-54.

20. Wülfing P, Diallo R, Müller C, Wülfing C, Poremba C, Heinecke A, et al. Analysis of cyclooxygenase-2 expression in human breast cancer: high throughput

tissue microarray analysis.

J Cancer Res Clin Oncol. 2003;129:375-82.

21. Costa C, Soares R, Reis-Filho JS, Leitão D, Amendoeira I, Schmitt FC.

Cyclo-oxygenase 2 expression is associated with angiogenesis and lymph node metastasis in human breast cancer. J Clin Pathol. 2002 ;55:429-34.

22. Ross JS, Fletcher JA. HER-2/neu (c-erb-B2) gene and protein in breast cancer.

Am J Clin Pathol. 1999;112:53-67.

23. Benoit V, Relic B, Leval Xd X, Chariot A, Merville MP, Bours V.

Regulation of HER-2 oncogene expression by cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2. Oncogene. 2004;23:1631-5.

24. Brueggemeier RW, Richards JA, Petrel TA. Aromatase and cyclooxygenases: enzymes in breast cancer. J Steroid Biochem Mol Biol. 2003;86:501-7.

25. Read LD, Greene GL, Katzenellenbogen BS.

Regulation of estrogen receptor messenger ribonucleic acid and protein levels in human breast cancer cell lines by sex steroid hormones, their antagonists, and growth factors. Mol Endocrinol. 1989 ;3:295-304.

26. Katzenellenbogen BS, Norman MJ.

Multihormonal regulation of the progesterone receptor in MCF-7 human breast cancer cells: interrelationships among insulin/insulin-like growth factor-I, serum, and

estrogen. *Endocrinology*. 1990;126:891-8.

27. Cho H, Aronica SM, Katzenellenbogen BS.

Regulation of progesterone receptor gene expression in MCF-7 breast cancer cells: a comparison of the effects of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate, estradiol, insulin-like growth factor-I, and serum factors. *Endocrinology*. 1994;134:658-64.

28. Salhab M, Singh-Ranger G, Mokbel R, Jouhra F, Jiang WG, Mokbel K.

Cyclooxygenase-2 mRNA expression correlates with aromatase expression in human breast cancer. *J Surg Oncol*. 2007;96:424-8.

29. Chow LW, Wong JI, Toi M. Celecoxib anti-aromatase neoadjuvant (CAAN) trial for locally advanced breast cancer: preliminary report. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2003;86:443-7.

Abstract

Prognostic significance of cyclooxygenase-2 expression in invasive breast carcinoma

Il-kyun Lee

Department of Medicine

The Graduate school, Yonsei University

(Directed by professor Hy-de Lee)

Background: Cyclooxygenase 1 and 2(COX-1 and COX-2) are key enzymes that convert arachidonic acid to prostaglandins. COX-2 is induced by responding to growth factors, inflammatory mediators, cytokines, tumor promoters, and oncogenes. COX-2 plays a role in malignant tumor development and progression. We investigated the prognostic impact of expression of COX-2, on disease-free survival and overall survival in patients with invasive breast carcinoma as well as the association between COX-2 expression and other clinicopathologic parameters.

Material and Methods: We analyzed the expression of COX-2 protein by immunohistochemistry in tissue microarray specimens of 293 invasive breast carcinoma.

Results: Expression of COX-2 was observed in 39.6% of the tumors, and it was associated significantly with histologic grade($p=0.004$), negative estrogen receptor status($p=0.002$) and negative progesterone receptor status($p=0.024$).

In contrast, there was no statistically significant correlation with age, tumor size, nodal status, extensive intraductal component, lymphovascular invasion, HER-2 amplification, disease-free survival and overall survival. Interestingly, association with unfavorable disease-free survival and unfavorable overall survival was apparent in the subgroup defined by estrogen receptor positivity($p < 0.0001$, $p = 0.0002$ respectively).

Conclusions: These results suggest that COX-2 expression is more common associated with poor prognostic factors. But, further studies with larger series of patients are necessary to confirm the association and to evaluate the subgroup of estrogen receptor positive patients.

Key Words : cyclooxygenase- 2, breast carcinoma, prognostic factor