

## 간세포암에서 Cyclooxygenase-2와 p53의 발현의 연관성과 수술 후 재발에 미치는 영향

윤병철, 한병훈, 이상욱, 허 방\*

고신대학교 의과대학 내과학 교실, 병리학 교실\*

## The correlation between cyclooxygenase-2 and p53 expression in hepatocellular carcinoma and the effects recurrence after surgery

Byung Cheol Yun, Byung Hoon Han, Sang Uk Lee, and Bang Hur\*

Department of Internal Medicine, Department of Pathology\*, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

### Abstract

**Background :** Overexpression of COX-2 has been well documented in different malignancies has been develop in the gastrointestinal tract, breast, cervix, lung, prostate, and hepatocellular carcinoma(HCC). The p53 tumor suppressor gene has a critical role for regulation of cell cycle, cellular growth, and maintenance of genomic integrity. However, the exact correlation of COX-2 and p53 expression in HCC is still unclear. To evaluates the expression of COX-2 and p53, and their relationships to clinicopathological variables in patients with HCC and feasibility of chemoprevention of hepatocellular carcinoma by COX-2 inhibitors was investigated. **Materials and Method :** Formalin-fixed, paraffin-embedded, archival surgical specimens that had been obtained from 50 patients who had received a diagnosis of primary HCC were studied. The expression of COX-2 and p53 in tissue were assessed immunohistochemically. This study analyze the correlation between COX-2 or p53 expression and various clinicopathological variables. **Results :** The COX-2 overexpression was not significantly associated with p53 positivity. High COX-2 expression was associated with well differentiated HCC(p=0.049). Disease free survival rate of high COX-2 expressor in nonneoplastic liver tissue are significantly lower than that of patients with low COX-2 expressor. **Conclusions :** This study suggest that the COX-2 may play a role in the early stage of hepatocarcinogenesis and it provide a rationale for testing whether COX-2 inhibitors can prevent development of HCC.

**Key Words :** COX-2, p53, Hepatocellular carcinoma

### 서 론

Cyclooxygenase(COX)는 arachidonic acid에서 prostaglandins 및 다른 eicosanoid의 합성 과정에서 중요한 속도조절효소이다. 이 COX는 60% 이상의 아미노산이 동일한 2 종류의 isoform인 COX-1과

COX-2가 있다고 알려져 있다. COX-1은 다양한 종류의 세포에서 상시성으로 발현되어 항상성의 유지에 중요한 역할을 하는 반면 COX-2는 정상 상태에서는 존재하지 않으나 염증성 자극, 다양한 사이토카인, 성장 인자와 mitogens 등에 의하여 발현이 유도된다.<sup>1)</sup> COX-2는 소화기암, 유방암, 자궁경부암, 폐암과 전립선암의 여러 가지 악성 종양의 발생에서 발현이 증가된다고 보고되고 있다.<sup>2-7)</sup> 특히 대장선종에서 암으로 진행 과정에서 COX-2의 병인적 역할은 가장 많이 연구되어 있다.<sup>8)</sup> 그리고 간세포암에서도

교신저자 : 윤 병 철

주소 : 602-702, 부산광역시 서구 압남동 34번지

고신대학교 의과대학 내과학 교실

TEL : 051-240-6233, FAX : 051-248-5686

E-mail : ybchea@ns.kosinmed.or.kr

COX-2가 과발현된다고 보고되고 있으나 자세한 기전은 알려져 있지 않다.<sup>9,10)</sup>

p53는 종양억제유전자로서 세포의 주기, 세포의 성장을 조절하고 유전 환경의 유지 등에 있어서 중요한 역할을 하며 세포자멸사(apoptosis)를 유발한다.<sup>11)</sup> 그리고, p53의 돌연변이에 의한 불활성화가 흑색종을 제외한 피부암, 방광암 및 대부분의 호흡기와 소화기의 암을 포함함 인간의 암에서 가장 흔한 유전적 변화라고 잘 알려져 있다.<sup>12)</sup> 최근 연구에서 정상 p53 유전자가 COX-2의 발현을 억제하며 COX-2도 세포자멸사를 억제한다고 제시되었다.<sup>13,14)</sup> 그렇지만, 간세포암의 발생에 있어서 COX-2와 p53의 발현의 자세한 연관성에 대하여는 아직 불분명하다.

원발성 간세포암은 국내에서 가장 흔한 종양 중의 하나로 예후는 일반적으로 불량하여 수술 후에도 5년 생존율은 25-39%에 국한되어 있다.<sup>15)</sup> 불량한 예후와 사용할 수 있는 치료의 한정성 등에 의하여 간세포암의 치료 및 예방을 위한 새로운 약제의 개발하는 것이 중요하다. 최근 선택적 COX-2 저해제와 비스테로이드성소염제(sulindac)를 사용하여 간암 세포 성장의 억제를 유도하였다는 보고가 있다.<sup>16,17)</sup> 이 결과는 COX-2 저해제가 간세포암에 대한 항종양의 효과가 있다는 것을 나타내는 예비적인 증거를 제공하였다.

이 연구에서는 간세포암에서 COX-2와 p53의 발현의 연관성을 조사하며 간세포암 환자의 여러 가지 임상적 변수들과 연관성을 확인하고 COX-2 발현이 간세포암의 분화 및 예후에 관여하는 영향을 분석하여 간세포암의 화학적 예방에 COX-2 저해제를 사용할 수 있는 가능성을 조사하고자 한다.

## 연구 대상 및 방법

### 1. 연구 대상

1999년부터 2004년까지 고신대학 복음병원에서 원발성 간세포암으로 진단 후 수술적 절제술을 시행한 환자를 조사하여 포르말린에 고정되거나 파라핀 블록으로 보관된 조직 중 상태가 양호하고 수술 후 추

적 가능하였던 50 예를 대상으로 하였다. 각 대상 환자에서 임상적 정보를 후향적으로 조사하였다. 전체 대상 환자 중 남자는 44 예, 여자는 6 예였고 평균 연령은 51.3 세, 종양의 평균 크기는 5.2 cm이었다(Table 1).

### 2. 방 법

#### ① 조직학적 검사

조직을 10% 포르말린에 고정한 후 파라핀에 포매한 조직을 3  $\mu$ m 두께로 잘라 hematoxylin-eosin으로 염색하였다. 각 간세포암 조직을 일본 간암연구회의 기준에 따라 조직학적 등급을 분화도에 근거하여 고분화, 중등도 분화, 저분화군으로 나누어 분류하였다. 50예의 간세포암 중 고분화군은 25 예, 중등도 분화군은 17 예, 저분화군은 8 예이었다(Table 1).

Table 1. Baseline characteristics of patients in study groups

| Characteristics    |                 |
|--------------------|-----------------|
| Age (years)        | 51.3 $\pm$ 10.5 |
| Sex (M/F)          | 44/6            |
| Albumin (g/dl)     | 3.9 $\pm$ 0.4   |
| Bilirubin (mg/dl)  | 1.1 $\pm$ 0.6   |
| AST(IU/L)          | 84.3 $\pm$ 65.1 |
| ALT(IU/L)          | 68.5 $\pm$ 61.4 |
| $\gamma$ -GT(IU/L) | 60.2 $\pm$ 82.4 |
| Etiology           |                 |
| Hepatitis B        | 37              |
| Hepatitis C        | 7               |
| Other              | 6               |
| Tumor size (cm)    | 5.2 $\pm$ 3.8   |

Value are expressed as mean $\pm$ SD.

#### ② 면역조직화학적 염색

포르말린에 고정한 파라핀 포매된 조직 블록을 3  $\mu$ m 두께로 잘라 절편을 probe-on slide에 부착시킨 후 xylene을 사용하여 탈파라핀화하였고 포화 알코올을 사용하여 함수시켰으며 조직 절편을 항원이 잘 노출될 수 있도록 0.01M sodium citrate buffer(pH6.0)에 담그어 microwave로 가열하였다. 이후 조직에 3% 과산화수소수를 첨가하여 상온에서 10분 동안 반응시켜 내재성 과산화효소의 활성을 억제하였다.

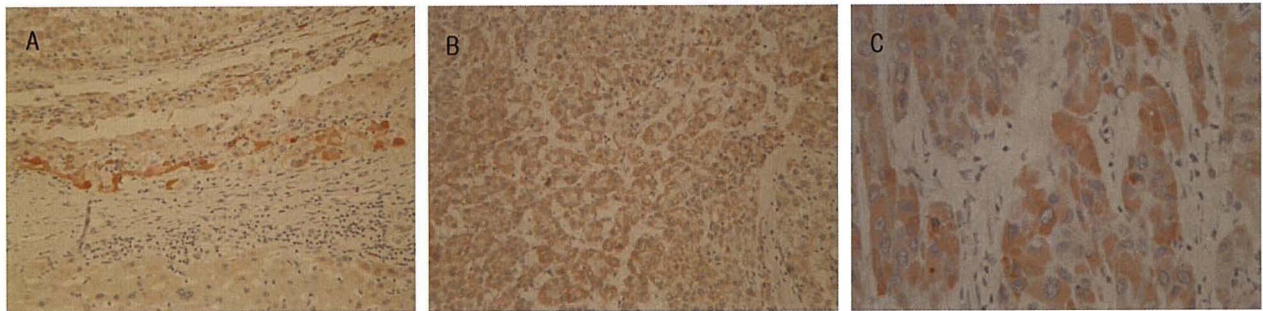


Fig 1. Immunohistochemical staining for COX-2

- A) Cox 2 expression in non-neoplastic liver cells located adjacent to tumor component (upper). The tumor cells also revealed weak cytoplasmic expression. The non-expressed cirrhotic nodule shows ongoing necroinflammation. (x100)  
 B) Cox 2 expression in neoplastic liver cell shows components of well-differentiated acinar type of HCC. (x100)  
 C) High power view of Cox 2 expression showing strong cytoplasmic reaction in tumor cells. (x450)

Immunoassay buffer로 세척한 후 non-immune 혈청으로 20분 동안 반응시켜 비특이적 반응을 억제하였다. 이 절편을 상온에서 2시간 동안 monoclonal mouse 항체를 사용하여 2시간 동안 반응시킨 후 완충액으로 세척하였다. 사용한 monoclonal mouse 항체는 각각 COX-2(1 : 100, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA), p53(1 : 100, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)의 항체를 사용하였다. 이후 biotin이 부착된 이차 항체인 goat anti-mouse IgG에 20분간 반응시킨 후 HRP-streptavidin reagent에 20분간 반응시켰다. Immunoreactivity의 검출은 Histostain-plus kit(Zymed, CA, USA)을 사용하여 avidin-biotin peroxidase complex 방법으로 시행하였다. 면역반응으로 peroxidase 활성을 보기위하여 3-amino-9-ethylcarbazole(AEC)을 발색제로 사용하였다. Mayer's hematoxylin을 사용하여 대조 염색을 시행 후 water-and alcohol-based mounting medium (Universal mount, Invitrogen, CA, USA)을 사용하여 봉입 후 관찰하였다.

전체 환자 중 50 예의 종양 조직과 종양의 크기가 커서 비종양성 간실질이 포함되지 않은 5 예를 제외한 45 예의 종양 주변부 조직에 대해 이 면역조직화학적 방법을 사용하여 관찰하였다.

### ③ 면역조직화학적 염색의 평가

면역조직화학적 염색의 평가는 임상정보가 주어지지 않은 상태에서 두 명의 병리 의사에 의해서 각각 평가되었다.

COX-2의 발현은 세포질의 염색에 기초를 하여 Sinicrope 등<sup>18)</sup>에 의해서 기술된 반정량적(semi-quantitative) 방법에 의해서 평가하였다. 면역 염색된 세포의 백분율을 근거로 하여 양성인 세포의 백분율이 (0) ≤ 10%, (1) 11 - 25%, (2) 26-50%, (3) 51-75%, (4) > 75%인 5가지 범주로 분류하였고 면역 염색된 강도에 따라 0) negative, (1) weak, (2) moderate, (3) strong의 4가지 범주로 분류하였다. 각각의 환자에서 이 두 가지 범주를 곱하여 면역 염색 정도의 점수를 계산하였고 이를 weak(score 0-4)와 moderate/strong(score 5-12)으로 양 군으로 분류하였다(Figure 1).

p53의 발현은 세포핵의 염색에 기초를 하여 세포핵이 면역 염색된 세포의 수가 전체의 5% 이상일 경우 양성으로 판정하였고 5% 미만인 경우 음성으로 판정하였다(Figure 2).

### ④ 통계학적 분석

모든 통계분석은 윈도우용 SPSS 통계 프로그램(SPSS for Window 12.0, SPSS Inc, Chicago, IL)을 사용하였다. COX-2 또는 p53의 발현과 여러 임상병리학적 변수를 비교하여 two-tailed Fisher's exact test 또는 chi-square test를 사용하여 유의성을 검증하였다. COX-2 또는 p53의 발현과 무병생존기간은 Kaplan-Meier 방법을 사용하여 측정하였으며 log rank test 방법으로 비교 분석하였다. 통계학적인 유의수준은 p value가 0.05 미만인 경우를 유의하다고 판정하였다.



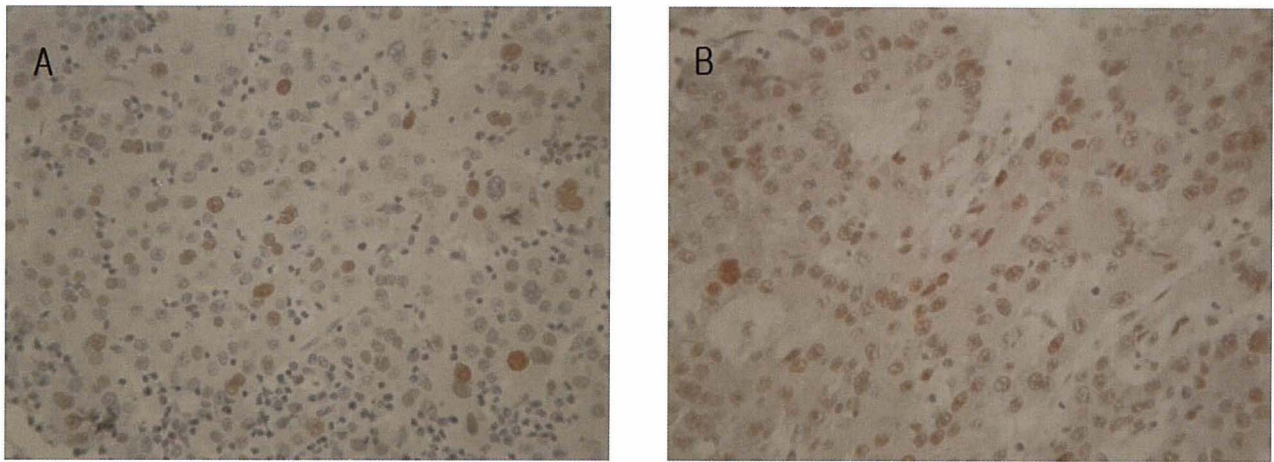


Fig 2. Immunohistochemical staining for p53

- A) Expression of p53 in neoplastic liver cell showed nuclei with scattered pattern(x200).  
B) Expression of p53 in neoplastic liver cell showed nuclei with diffuse pattern(x200).

## 결 과

### 1. 간세포암에서 COX-2 발현과 임상병리학적 특징의 비교

통계 분석을 위하여 COX-2 발현을 COX-2 고발현군(moderate와 strong)과 저발현군(weak와 negative)으로 나누어 간세포암 50 예에서 여러 임상병리학적 특징과 연관을 분석하였다(Table 2). COX-2 고발현군은 84%(42/50), 저발현군은 16%(8/50)이었다. 간세포암의 분화도에 따른 비교에서 COX-2 발현은 고분화군에서 저분화군에 비하여 COX-2가 유의하게 높게 발현되었다( $P=0.049$ ). COX-2의 발현과 연령, 성별, 종양의 크기, 혈청 AFP 수치, AST와 ALT와는 통계학적인 유의성이 없었다.

### 2. 종양 주변부 조직에서 COX-2 발현과 임상병리학적 특징의 비교

종양 주변부의 조직에서 COX-2는 고발현군은 56%(23/45), 저발현군은 44%(22/45)이었고 COX-2의 발현과 간세포암의 조직학적 등급, 연령, 성별, 종양의 크기, 혈청 AFP 수치, AST와 ALT와는 통계학적 유의성이 없었다(Table 3).

종양 주변부 조직에서 간경변증의 유무에 의한

COX-2 발현의 비교에서 간경변증의 유무와 COX-2의 발현과는 유의성이 없었고 종양 주변부로 염증세포인 lymphocyte의 침윤 여부와 COX-2 발현은 유의한 차이가 없었다(Table 3).

Table 2. Relation of clinicopathologic features with COX-2 in HCC

|                  | (n) | Low | High | p value |
|------------------|-----|-----|------|---------|
| Age (year)       |     |     |      | NS      |
| < 60             | 38  | 4   | 34   |         |
| ≥ 60             | 12  | 4   | 8    |         |
| Gender           |     |     |      | NS      |
| Male             | 44  | 5   | 39   |         |
| Female           | 6   | 3   | 3    |         |
| Tumor size       |     |     |      | NS      |
| ≤ 3cm            | 20  | 4   | 16   |         |
| > 3cm            | 30  | 4   | 26   |         |
| AFP              |     |     |      | NS      |
| < 500            | 33  | 5   | 28   |         |
| ≥ 500            | 16  | 3   | 13   |         |
| Histologic grade |     |     |      | 0.049   |
| Well             | 25  | 1   | 24   |         |
| Moderate/poor    | 25  | 7   | 18   |         |

HCC; Hepatocellular carcinoma

NS; non-specific

Table 3. Relation of clinicopathologic features with COX-2 in nontumor tissue

|                         | (n) | Low | High | p value |
|-------------------------|-----|-----|------|---------|
| Age (year)              |     |     |      | NS      |
| < 60                    | 33  | 16  | 17   |         |
| ≥ 60                    | 12  | 6   | 6    |         |
| Gender                  |     |     |      | NS      |
| Male                    | 40  | 19  | 21   |         |
| Female                  | 5   | 3   | 2    |         |
| Tumor size              |     |     |      | NS      |
| ≤ 3cm                   | 19  | 11  | 8    |         |
| > 3cm                   | 26  | 11  | 15   |         |
| AFP                     |     |     |      | NS      |
| < 500                   | 31  | 18  | 13   |         |
| ≥ 500                   | 13  | 4   | 9    |         |
| Histologic grade        |     |     |      | NS      |
| Well                    | 23  | 12  | 11   |         |
| Moderate/poor           | 22  | 10  | 12   |         |
| Cirrhosis               |     |     |      | NS      |
| Positive                | 27  | 14  | 13   |         |
| Negative                | 13  | 6   | 7    |         |
| Lymphocyte infiltration |     |     |      | NS      |
| Positive                | 17  | 9   | 8    |         |
| Negative                | 25  | 12  | 13   |         |

HCC; Hepatocellular carcinoma

NS; non-specific

### 3. 간세포암에서 p53의 발현과 임상병리학적 특징의 비교

간세포암에서 p53 발현의 양성율은 42%(19/45)이었다. 혈청 AFP가 높은 군에서 AFP가 낮은 군에 비하여 p53의 발현이 유의하게 높았다( $p=0.031$ ). 그 외 간세포암에서의 p53의 발현은 조직학적 등급, 연령, 성별, 종양의 크기, 혈청 AST와 ALT에 따른 유의한 차이는 없었다(Table 4).

### 4. 간세포암에서 COX-2와 p53 발현의 비교

간세포암에서 COX-2와 p53의 발현은 유의한 연관성이 없었다(Table 5).

간세포암 조직에서 COX-2 발현과 종양 주변부의 COX-2의 발현사이에도 유의한 차이가 없었다(Table 5).

Table 4. Relation of clinicopathologic features with p53 in HCC

|                  | (n) | Low | High | p value |
|------------------|-----|-----|------|---------|
| Age (year)       |     |     |      | NS      |
| < 60             | 33  | 20  | 13   |         |
| ≥ 60             | 12  | 6   | 6    |         |
| Gender           |     |     |      | NS      |
| Male             | 41  | 24  | 17   |         |
| Female           | 4   | 2   | 2    |         |
| Tumor size       |     |     |      | NS      |
| ≤ 3cm            | 18  | 12  | 6    |         |
| > 3cm            | 27  | 14  | 13   |         |
| AFP              |     |     |      | 0.031   |
| < 500            | 30  | 21  | 9    |         |
| ≥ 500            | 14  | 5   | 9    |         |
| Histologic grade |     |     |      | NS      |
| Well             | 24  | 16  | 8    |         |
| Moderate/poor    | 21  | 10  | 11   |         |

HCC; Hepatocellular carcinoma

NS; non-specific

Table 5. Correlation between COX-2 and p53 expression

|                          | COX-2 in HCC |      | p value |
|--------------------------|--------------|------|---------|
|                          | Low          | High |         |
| p53                      |              |      | NS      |
| Positive                 | 2            | 17   |         |
| Negative                 | 3            | 23   |         |
| COX-2 in nontumor tissue |              |      | NS      |
| Low                      | 4            | 18   |         |
| High                     | 3            | 20   |         |

HCC; Hepatocellular carcinoma

NS; non-specific

### 5. 1년 무병생존율과 COX-2, p53 발현의 비교

종양 주변부 조직에서 COX-2 고발현군이 저발현군에 비해서 1년 무병생존율이 유의하게 낮았다( $p=0.046$ ). p53이 양성인 간세포암 환자가 음성인 환자에 비하여 유의하게 1년 무병생존율이 낮았다( $p<0.01$ ). 간세포암에서 COX-2의 발현과 무병생존율 사이에는 통계학적인 유의성이 없었다(Fig 3).

## 고찰

간세포암은 초기 단계의 암에서는 분화도가 좋다가 종양이 진행할수록 점차적으로 분화도가 나쁜 암으로 표현되는 것은 잘 알려져 있다.<sup>19)</sup> 이전의 면역화학조직 염색을 이용한 연구에서 고분화된 인체의 간세포암에서 transforming growth factor- $\alpha$ (TGF- $\alpha$ )와 epidermal growth factor receptor(EGFR)가 발현된다는 것이 알려졌고 저분화된 간세포암에서는 TGF- $\alpha$ 와 EGFR의 발현이 감소한다는 것이 보고되었다.<sup>20)</sup> 최근 실험실에서 COX-2의 발현이 TGF- $\alpha$ 와 EGFR 체계의 활성화와 연관이 있는 것으로 보고되었고 인체의 간세포암에서도 COX-2 발현과 TGF- $\alpha$ /EGFR이 연관된다는 것이 보고되었다.<sup>21,22)</sup> 이 중 TGF- $\alpha$ 는 간세포암의 발생과 진행에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀져 있다.<sup>23,24)</sup>

최근 COX-2 발현과 p53의 돌연변이가 대장암, 위암, 신장암 등 여러 종류의 암에서 연관되어 있다는 보고가 있다.<sup>13,14,25)</sup> 이 중 대장의 종양이 여러 위치의 유전자 돌연변이에 의한 여러 단계의 발암 과정이 일어나는 것으로 잘 알려져 있으며 이 여러 단계 과정의 시작은 APC 유전자의 비활성화 같이 세포 성장을 조절하는 중요한 유전자들의 돌연변이가 발생하여 세포자멸사가 억제되어 세포의 비정상적인 증식이 증가되는 것으로 시작된다. 세포의 팽창이 지속되어 선종이 발생하고 K-ras 또는 p53 돌연변이 같이 이차적인 돌연변이가 발생하여 충분한 양의 돌연변이가 선종 내에 축적되면 종양의 표현형이 발생하게 되고 여기에서 유전자 돌연변이가 지속되어 대장 선종에서 대장암이 발생하게 된다. 이 과정에서 COX-2는 대장암의 발생 과정의 초기부터 관여하고 대장암 발생 후에도 지속되어 신생혈관의 생성이나 원격전이 등과도 연관되어 진다.<sup>26)</sup>

본 연구에서 분화가 좋은 간세포암에서 COX-2 발현이 유의하게 증가되는 것을 알 수 있었고 이와 같은 결과로 COX-2는 간세포암의 발생에 있어서 주로 초기 단계에 연관되어 있다는 것을 생각할 수 있었

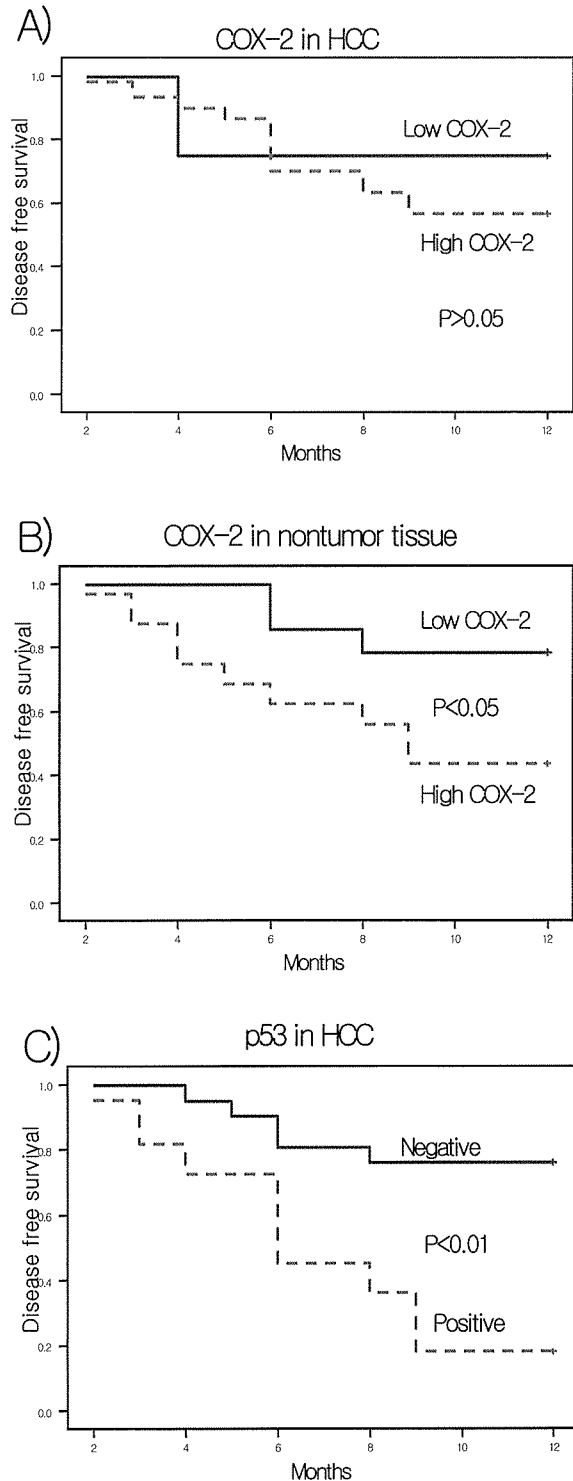


Figure 3. Kaplan-Meier disease free survival curve showed according to A) COX-2 in HCC, B) COX-2 in nontumor tissue, C) p53 in HCC expression.

다. Koga등<sup>9)</sup>도 고분화된 간세포암에서 COX-2의 발현이 높고 진행된 암에서는 COX-2의 발현이 낮은 것을 보고하였는데 이런 결과는 선종에서 대장직장암이 발생하는 과정에서 COX-2가 초기부터 지속적으로 발현되는 것과는 상이한 결과이다. 이런 대장암의 발생과 간세포암의 발생에서 COX-2의 발현의 차이가 보이는 이유는 불분명하지만 앞에서 언급했듯이 간세포암의 발생에 TGF- $\alpha$ 와 EGFR가 주로 초기에 연관되어 있는 것으로 이런 차이를 보이는 것에 대하여 설명할 수 있다.

본 연구에서는 간세포암에서 COX-2의 과발현과 p53의 발현은 연관성이 없었다. 이와 같이 연관성이 없는 이유는 아래와 같다. 간세포암의 암성 변화 기전은 여러 단계로 발생하는 대장암과는 달리 초기에는 고분화에서 진행할수록 저분화암으로 변하는 것으로 알려져 있다.<sup>19)</sup> 간세포암에서 COX-2와 p53의 발현은 분화도와 연관되어 발현하는 것으로 COX-2는 저분화암에 비하여 고분화암에서 발현이 증가하지만 p53의 돌연변이는 분화도가 감소할수록 증가한다고 알려져 있다.<sup>26)</sup> 그러므로, COX-2는 간세포암의 발생에 있어서 주로 초기 단계에 관여하며 p53는 주로 후기 단계에서 중요한 역할을 하므로 이와 같은 이유에 의하여 본 연구와 같이 간세포암에서 COX-2의 발현과 p53의 발현은 유의한 연관성이 없는 것으로 나타났다고 생각된다.

Kondo등<sup>10)</sup>은 정상 간조직에 비하여 만성 간염이나 간경변증이 발생한 간조직에서 COX-2의 발현이 증가되었으나 간염이나 간경변증 등 염증이 발생한 조직과 간세포암 조직의 COX-2 발현은 차이가 없는 것으로 보고하여 만성 간염이나 간경변증이 간세포암 발생의 전단계라고 제시하였다. 본 연구에서는 COX-2가 과발현되는 경우가 간세포암 조직에서 82%, 종양 주변부 조직에서는 56%로 간세포암에서 종양 주변부 조직에 비하여 높게 발현되었으나 유의한 차이가 없었다. 이는 이전 연구와 유사한 결과로 만성 간질환 환자에서 간세포암의 발생을 조기에 진단하기 위하여 COX-2를 이용하는 것은 간경변증이

나 만성 간염 환자는 간조직 내에 염증이 이미 발생한 상태로 염증 등이 있으면 유도되는 COX-2를 이용하는 것은 간세포암의 진단에는 도움이 되지 않는 것을 알 수 있었다.

간세포암에서 p53의 발현율은 19-50% 정도로 지역별로 차이를 보이는 데 본 연구에서 p53의 발현율은 42%로 국내에서 임 등이 보고한 42.3%와 유사한 결과이다.<sup>27-29)</sup>

간세포암에서 p53가 과발현된 경우나 AFP 수치가 높을수록 예후가 나쁘다고 알려져 있다.<sup>30,31)</sup> 본 연구에서도 간세포암에서 AFP 수치가 높은 군에서 낮은 군에 비하여 p53의 발현이 증가되는 것을 확인할 수 있었다( $p=0.031$ ). 그리고 Kaplan-Meier 곡선에서 1년 무병생존율이 p53이 양성인 간세포암이 음성인 간세포암 환자군에 비하여 유의하게 낮은 것을 알 수 있었다.

본 연구에서 간세포암에서 COX-2의 발현에 따른 1년 무병생존율은 차이가 없는 것으로 간세포암 조직 내에 COX-2 발현은 예후와는 관계가 없는 것을 알 수 있었으나 종양 주변부 조직에서 COX-2의 과발현군이 저발현군에 비하여 무병생존율이 유의하게 낮았다. 이는 종양 주변부 조직에서 COX-2의 발현이 높으면 재발률이 높은 것으로 임상적 관점에서 보면 흥미로운 결과이다. 일반적으로 간세포암의 예후는 불량하여 치료적 간절제를 시행한 이후에도 5년 내에 재발률이 50~60%라고 알려져 있다.<sup>32)</sup> 이렇게 남아 있는 간조직으로부터 새롭게 발생하는 종양은 원래 있던 종양이 재발하거나 남아 있던 간조직에서 다발성으로 암성 변화가 일어나서 재발하게 된다. 본 연구에서는 정확한 작용 부위는 알 수 없으나 종양 치료 후 남아 있는 간조직에서 COX-2가 과발현될수록 종양의 재발이 잘된다는 것을 알 수 있었다. 이에 대하여 향후 정확한 작용과정을 알기 위하여 간세포암의 발암과정에 대한 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

최근 대장 선종에서 COX-2 저해제를 사용하여 대장암 발생을 억제한 것과 유사하게 선택적 COX-2

저해제나 NSAID(sulindac)을 사용하여 간암세포의 성장을 억제하였다는 보고가 있다.<sup>16,17)</sup> 본 연구는 COX-2 저해제나 NSAID를 간세포암 환자에서 치료 후 재발을 억제하기 위하여 사용할 수 있는 가능성을 제시하였다. 향후 간세포암의 화학적 예방을 위하여 COX-2 저해제를 사용하는 것에 대하여 많은 관심과 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## 결 론

본 연구는 간세포암에서 COX-2는 고분화암에서 발현이 유의하게 증가됨을 확인하였고 간세포암에서 COX-2와 p53의 발현은 유의한 연관관계가 없는 것을 확인하였다. 그리고 간세포암 환자의 종양 주변부 조직에서 COX-2의 발현이 높을수록 재발률이 높은 것을 알 수 있었고 이런 결과로 간세포암의 발생을 예방하는 목적으로 COX-2 저해제를 사용하여 COX-2 발현을 억제시키면 간세포암의 재발이나 발생을 억제시킬 수 있는 가능성을 제시하였다.

## 참고문헌

1. Eberhart CE, Du Bois RN. Eicosanoids and the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 109 : 285-301, 1995
2. Masunaga R, Kohno H, Dhar DK, Ohno S, Shibakita M, Kinugasa S, Yoshimura H, Tachibana M, Kubota H, Nagasue N. Cyclooxygenase-2 expression correlates with tumor neovascularization and prognosis in human colorectal carcinoma patients. *Clin Cancer Res* 6 : 4064-4068, 2000
3. Joo YE, Rew JS, Seo YH, Choi SK, Kim YJ, Park CS, Kim SJ. Cyclooxygenase-2 overexpression correlates with vascular endothelial growth factor expression and tumor angiogenesis in gastric cancer. *J Clin Gastroenterol* 37 : 28-33, 2003
4. Denkert C, Winzer KJ, Müller BM, Weichert W, Pest S, Köbel M, Kristiansen G, Reles A, Siegert A, Guski H, Hauptmann S. Elevated expression of cyclooxygenase-2 is a negative prognostic factor for disease free survival and overall survival in patients with breast carcinoma. *Cancer* 97 : 2978-2987, 2003
5. Chen YJ, Wang LS, Wang PH, Lai CR, Yen MS, Ng HT, Yuan CC. High cyclooxygenase-2 expression in cervical adenocarcinoma. *Gynecol Oncol* 88 : 379-38, 2003
6. Khuri FR, Wu H, Lee JJ, Kemp BL, Lotan R, Lippman SM, Feng L, Hong WK, Xu XC. Cyclooxygenase-2 overexpression is a marker of poor prognosis in stage I non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 7 : 861-867, 2001
7. Yoshimura R, Sano H, Masuda C, Kawamura M, Tsubouchi Y, Chargui J, Yoshimura N, Hla T, Wada S. Expression of cyclooxygenase-2 in prostate carcinoma. *Cancer* 89 : 589-596, 2000
8. Janne PA, Mayer RJ. Chemoprevention of colorectal cancer. *N Engl J Med* 342 : 1960-1967, 2000
9. Koga H, Sakisaka S, Ohishi M, Kawaguchi T, Taniguchi E, Sasatomi K, Harada M, Kusaba T, Tanaka M, Kimura R, Nakashima Y, Nakashima O, Kojiro M, Kurohiji T, Sata M. Expression of cyclooxygenase-2 in human hepatocellular carcinoma : relevance to tumor dedifferentiation. *Hepatology* 29 : 688-696, 1999
10. Kondo M, Yamamoto H, Nagano H, Okami J, Ito Y, Shimizu J, Eguchi H, Miyamoto A, Dono K, Umeshita K, Matsuura N, Wakasa K, Nakamori S, Sakon M, Monden M. Increased expression of COX-2 in nontumor liver tissue is associated with shorter disease-free survival in patient with hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 5 : 4005-4012, 1999
11. Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumor suppressor gene. *Nature* 351 : 453-456, 1991
12. Hernandez-Boussard T, Rodriguez-Tome P, Montesano R, Hainaut P. IARC p53 Mutation Database : A Relational Database to Compile and Analyze p53 Mutations in Human Tumors and Cell Lines. *Hum Mutat* 14(1) : 1-8, 1999
13. Choi EM, Heo JJ, Oh JY, Kim YM, Ha KS, Kim JJ, Han JA. COX-2 regulates p53 activity and inhibits DNA damage-induced apoptosis. *Biochem and Biophys Res Comm* 328 : 1107-1112, 2005



14. Subbaramaiah K, Aktorki N, Chung WJ, Mestre JR, Sampat A, Dannenberg AJ. Inhibition of cyclooxygenase-2 gene expression by p53. *J Biol Chem* 274 : 10911-10915, 1999
15. Colombo M. Hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 15 : 225-236, 1992
16. Rahman MA, Dhar DK, Masunaga R, Yamanoi A, Kohno H, Nagasue N. Sulindac and exisulind exhibit a significant antiproliferative effect and induce apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line. *Cancer Res* 60 : 2085-2089, 2000
17. Bae SH, Jung ES, Park YM, Kim BS, Kim BK, Kim DK, Ryu WS. Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in hepatocellular carcinoma and growth inhibition of hepatoma cell lines by a cyclooxygenase-2 inhibitor, NS-398. *Clin Cancer Res* 7 : 1410-1418, 2001
18. Sinicrope FA, Ruan SB, Cleary KR, Stephens LC, Lee JJ, Levin B. bcl-3 and p53 oncoprotein expression during colorectal tumorigenesis. *Cancer Res* 55 : 237-241, 1995
19. Sugihara S, Nakashima O, Kojiro M, Majima Y, Tanaka M, Tanikawa K. The morphologic transition in hepatocellular carcinoma. A comparison of the individual histologic features disclosed by ultrasound-guided fine-needle biopsy with autopsy. *Cancer* 70 : 1488-1492, 1992
20. Morimitsu Y, Hsia CC, Kojiro M, Tabor E. Nodules of less-differentiated tumor within or adjacent to hepatocellular carcinoma : relative expression of transforming growth factor- $\alpha$  and its receptor in the different areas of tumor. *Hum Pathol* 26 : 1126-1132, 1995
21. DuBois RN, Awad J, Morrow J, Roberts II LJ, Bishop PR. Regulation of eicosanoid production and mitogenesis in rat intestinal epithelial cells by transforming growth factor- $\alpha$  and phorbol ester. *J Clin Invest* 93 : 493-498, 1994
22. Asano K, Nakamura H, Lilly CM, Klagsbrun M, Drazen JM. Interferon  $\gamma$  induces prostaglandin G/H synthase-2 through an autocrine loop via the epidermal growth factor receptor in human bronchial epithelial cells. *J Clin Invest* 99 : 1057-1063, 1997
23. Jhappan C, Stahle C, Harkins RN, Fausto N, Smith GH, Merlino GT. TGF- $\alpha$  overexpression in transgenic mice induces liver neoplasia and abnormal development of the mammary gland and pancreas. *Cell* 61 : 1137-1146, 1990
24. Hsia CC, Axiotis CA, Di Bisceglie AM, Tabor E. Transforming growth factor- $\alpha$  in human hepatocellular carcinoma and coexpression with hepatitis B surface antigen in adjacent liver. *Cancer* 70 : 1049-1056, 1992
25. Leung WK, To KF, Ng YP, Lee TL, Lau JY, Chan FK, Ng EK, Chung SC, Sung JJ. Association between cyclooxygenase-2 overexpression and missense p53 mutations in gastric cancer. *Br J Cancer* 84 : 335-339, 2001
26. Nakano A, Watanabe N, Nishizaki Y, Takashimizu S, Matsuzaki S. Immunohistochemical studies on the expression of P-glycoprotein and p53 in relation to histological differentiation and cell proliferation in hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 25(2) : 158-165, 2003
27. Skopelitou A, Hadjiyannakis M, Alexopoulou V, Kamina S, Krikoni O, Agnantis NJ. p53 expression in hepatocellular carcinoma in Greece correlation with epidemiological and histopathological data. *Path Res Pract* 192 : 1100-1106, 1996
28. Irene OL, Srivastava G, Chuang LP, Tsang SWY, Matthew MT. Overexpression and point mutations of p53 tumor suppressor gene in hepatocellular carcinoma in Hong Kong Chinese people. *Cancer* 74 : 30-37, 1994
29. 임소덕, 김우호, 장자준, 유은실. 간세포암 주변 비종양성 간실질에서 세포증식능, p53 단백질의 발현과 apoptosis의 분석. *대한간학회지* 8 : 33-45, 1998
30. Cem C, Ulus S, Erdem G, Gul Y. Detection of Mutant p53 in Hepatocellular Cancer from Turkey and Its Correlation with Clinicopathologic Parameters. *Dig Dis Scie* 48(5) : 865-869, 2003
31. Gianni S, Cecchetto A, Altavilla G, Ragazzi R, Bertazzo M, De Giorgio M, Baldan A, Fagioli S, Farinati F. Tumour staging, morphology and p53 overexpression concur in predicting survival in hepatocellular carcinoma. *J Intern Med* 257(4) : 367-373, 2005
32. Wu CC, Chen JT, Ho WL, Yeh DC, Tang JS, Liu TJ, P'eng FK. Liver resection for hepatocellular carcinoma in octogenarians. *Surgery* 125 : 332-338, 1999