

위 장 관 질 환 에 서
Helicobacter pylori 감 염 에 의 한
*Cyclooxygenase-2*와
*Inducible Nitric Oxide Synthase*의
과 발 현

연 세 대 학 교 보 건 환 경 대 학 원
의 생 명 과 학 전 공
이 영 기

위 장 관 질 환 에 서
Helicobacter pylori 감 염 에 의 한
*Cyclooxygenase-2*와
*Inducible Nitric Oxide Synthase*의
과 발 현

지 도 김 종 배 교 수

이 논 문 을 석 사 학 위 논 문 으 로 제 출 함

2006년 12월 일

연 세 대 학 교 보 건 환 경 대 학 원

의 생 명 과 학 전 공

이 영 기

이 영 기 의 석사 학위논문을 인준함

심사위원_____

심사위원_____

심사위원_____

연세대학교 보건환경대학원

2006년 12월

감 사 의 글

직장생활과 학업을 병행하는 일이 쉽지는 않았지만, 무사히 졸업할 수 있게 된 것은 많은 분들의 도움이 있었기 때문입니다. 먼저 이 모든 일들을 계획하시고 인도하여 주신 하나님께 감사드리며, 좁은 지면에 일일이 감사의 마음을 전하지 못함을 죄송하게 생각합니다. 논문의 처음 연구계획에서부터 완성에 이르기까지 학문적 기틀을 잡아 주시고 소상한 가르침을 베풀어 주셨던 김종배 교수님과 논문 심사과정을 통하여 아낌없는 격려와 지도를 해주신 양용석 교수님, 이해영 교수님께 감사를 드립니다. 또한 늦은 밤까지 배움의 길을 열어주신 오옥두 교수님 박용석 교수님, 김태우 교수님께 감사를 드립니다. 대학원생활 내내 크고 작은 많은 부탁들을 친절하게 들어주고 조언해 준 안병락 선배님께 감사를 드립니다. 바쁜 가운데 실험과 많은 정보를 주신 이규상 선생님, 임관훈 선생님께 감사를 드립니다. 실험을 허락해 주신 강길현 과장님과 많은 지원과 배려로 직장생활과 대학원 생활을 병행할 수 있도록 모든 환경을 지원해 주신 노희일 기사장님과 논문 시작부터 함께 하며 지도해 주신 엄대운 선생님 그리고 대학원 기간동안 많은 배려로 직장 내에서 편의를 봐주신 병리과 직원들께도 감사를 드립니다. 끝으로 석사과정을 마칠 수 있도록 배려해 주고 늘 곁에서 기도해 주신 아버님, 장인, 장모님, 사랑하는 아내에게 존경과 감사를 드리며 논문기간 중에 태어난 나의 딸 예담이와도 이 작은 결실의 기쁨을 함께 나누고자 합니다.

2006년 12월 이 영 기 드림

목 차

표 및 그림 목차	ii
약 기 호 표	iii
국 문 요 약	1
제 1 장 서 론	2
제 2 장 재 료 및 방 법	5
1. 환자 및 임상 검체 수집	5
2. <i>Hematoxylin & Eosin</i> 염색	5
3. <i>Warrthin Starry</i> 염색	6
4. 면역조직화학염색	8
5. <i>Histological scoring</i>	9
6. 통계 처리	12
제 3 장 연 구 성 적	13
1. 위장관질환 단계별 나이, 성별 분포	13
2. 면역조직화학염색을 통한 COX-2의 발현확인	14
3. COX-2 양성 발현과 나이, 성별과의 상관관계	16
4. 면역조직화학염색을 통한 iNOS의 발현확인	17
5. iNOS 양성 발현과 나이, 성별과의 상관관계	19
6. COX-2 와 iNOS 양성 발현의 상관관계	20
7. <i>H. pylori</i> 감염정도와 COX-2, iNOS 양성 발현과의 상관관계	21
제 4 장 고 찰	22
제 5 장 결 론	26
참 고 문 헌	27

표 및 그림 목차

Table 1. Clinical profile of the studied groups	13
Table 2. COX-2 expression in gastric diseases	14
Table 3. Relationships between COX-2 expression and age or sex ..	16
Table 4. iNOS expression in gastric diseases	17
Table 5. Relationships between iNOS expression and age or sex ..	19
Table 6. Correlation between COX-2 and iNOS expression of <i>H. pylori</i> positive groups in gastric diseases	20
Table 7. Relationships between the degree of <i>H. pylori</i> infection and the expression of COX-2 and iNOS in gastric diseases	21
Figure 1. <i>H. pylori</i> with Warthin Starry stain	7
Figure 2. Grading of COX-2 with immunohistochemical stain according to the histological score.....	10
Figure 3. Grading of iNOS with immunohistochemical stain according to the histological score.....	11
Figure 4. Expression of COX-2 with immunohistochemical stain according to the clinical stage	15
Figure 5. Expression of iNOS with immunohistochemical stain according to the clinical stage	18

약 기 호 표

CagA : cytotoxin associated gene A

CLO : *Campylobacter*-like organism

COX-2 : Cyclooxygenase-2

eNOS : endothelial nitric oxide synthase

H. pylori : *Helicobacter pylori*

IFN- γ : interferon- γ

IL : interleukin

iNOS : inducible nitric oxide synthase

NO : nitric oxide

NOS : nitric oxide synthase

nNOS : neuronal nitric oxide synthase

PCR : polymerase chain reaction

PGs : prostaglandins

PGE₂ : prostaglandin E₂

TNF : tumor necrosis factor

VacA : vacuolating cytotoxin A

국문 요약

위 장관 질환에서 *Helicobacter pylori* 감염에 의한 Cyclooxygenase-2(COX-2)와 Inducible Nitric Oxide Synthase(iNOS)의 과발현

위암은 한국에서 가장 많이 발생하는 악성종양이다. *Helicobacter pylori*(*H. pylori*)와 위암과의 관계는 이미 많은 연구에 의해 보고되고 있다. 그러나 아직까지 *H. pylori*가 어떤 메카니즘을 통해서 위암을 유도하는지 명확하게 밝혀지지 않았다. 최근 *H. pylori* 감염이 cyclooxygenase-2(COX-2)와 inducible nitric oxide synthase(iNOS)를 유도한다는 보고가 주목을 받고 있다. 본 연구에서는 위 장관 질환을 단계별로 *H. pylori* 양성군과 음성군으로 분류하여 면역조직화학검사를 통해 *H. pylori* 감염에 의한 COX-2와 iNOS와의 발현과 위암과의 상관관계를 알아보았다. 2002년부터 2006년 4월까지 강릉아산병원에서 위내시경검사를 받은 환자 중 *H. pylori* 양성군 51예, 음성군 45예를 각각 사용하였다. COX-2는 *H. pylori* 양성군이 음성군에 비해 높게 발현이 되었으며($p<0.0001$), 특히 이형성증과 위선암단계에서 높게 발현되었다. iNOS는 *H. pylori* 양성군이 음성군에 비해 증가하는 경향은 있었으나, 통계학적 유의성은 관찰되지 않았다. 그러나 *H. pylori* 양성군에선 이형성증과 위선암에서, 음성군에선 위선암에서 높게 발현이 되었다. 또한 COX-2가 양성으로 발현된 경우 iNOS도 대부분 동시에 발현되는 것을 확인하였다($p<0.0001$). 이러한 결과로 *H. pylori* 감염에 의한 COX-2와 iNOS 발현이 위암의 발암진행을 가속화 하는데 기여하리라 추정할 수 있었다.

.....
핵심이 되는 말 : *H. pylori*, COX-2, iNOS, 면역조직화학검사

제 1 장 서 론

1983년 *Helicobacter pylori*(이하 *H. pylori*)의 발견(35) 이래 여러 역학적 연구의 기초 위에서 이 세균의 감염이 위암의 발생과 관련성이 있는 것으로 시사되고 있으며, World Health Organization(WHO) 산하 International Agency of Research on Cancer(IARC)에서 1994년 *H. pylori*를 인간의 제1군 발암인자로 규정한 바 있다(14). 그러나 위암 환자들에서 *H. pylori*의 감염 빈도는 연구자에 따라 현저한 차이를 보이고 있으며(8,9,22,25), *H. pylori*가 실제 위암의 발생과 직접적인 관련성이 있는가에 대해서는 많은 논란이 있다(13,28).

H. pylori 감염은 만성위염, 위 십이지장 궤양의 주요한 원인인자로 인정되고 있고, 더 나아가 아직까지 명확한 기전은 완전히 밝혀지지 않았지만, 위선암 및 위림프종의 원인균일 수도 있다고 알려져 있고, 실제로 mongolian gerbil 등을 이용한 동물실험에서는 *H. pylori* 감염에 의하여 위암이 발생됨이 규명된 바 있다(36).

*H. pylori*가 감염된 후 감염에 따른 cytokines 및 chemokines의 생성증가를 통한 위의 염증반응과 숙주의 정상적인 점막 방어인자간의 균형이 파괴되고, 진전이 되면서 각종 질환이 발생하는데 *H. pylori* 감염에 따른 각종 위 병변 발생의 정도 및 종류도 바로 이러한 두 요인 사이의 균형 유지의 정도에 따라 결정된다고 알려져 있다(3).

최근 위암과 관련된 많은 유전자 중에서 *H. pylori*가 위점막의 cyclooxygenase-2(COX-2)와 inducible nitric oxide synthase(iNOS)의 발현을 유도 한다는 보고가 주목을 받고 있다(10,21,27,44).

여러 종류의 위점막 방어인자 중 prostaglandins(PGs)은 위점액 및 bicarbonate 분비, 위점막 혈류유지, 위산분비 억제, 위 운동 조절 등 다양한 기능을 가지고 있는 중요한 물질로서 cyclooxygenase(COX)계를 통하여 PGs가 생성된다.

이미 잘 알려져 있는 바와 같이 COX는 두 가지의 아형으로 존재하는데, COX-1은 위는 물론 다양한 장기에 상존되어 있는데 반해, COX-2는 대부분 조직의 정상 상태에서는 거의 발현되지 않고 염증반응에 의하여 유도되는 것으로 알려져

있다.

정상 위 점막에서는 COX-1에 의해 생성된 PGs이 위점막의 *integrity*의 유지에 매우 중요한 반면에 COX-2는 염증시 유도되어 손상된 위점막에서 PGE2의 생성에 관여함으로써, 점막손상의 재생에는 COX-1과 함께 COX-2도 중요한 역할을 하게 된다. 그런데 최근의 보고에(27) 의하면 *H. pylori* 감염은 직접적으로 위점막 상피세포에서 COX-2 mRNA 발현을 증가시켜서 PGE2의 생성을 증가시키며, 아마도 이것이 *H. pylori* 감염에 의한 위암발생에도 관여하리라 생각된다. 특히 이러한 COX-2 발현은 위암의 진행단계와 관계를 가지고 있어 정상 위점막이나 만성위염 또는 만성위축성위염에서는 발현되지 않지만 장형화생에서 발현이 증가하여 이형성증에서 44%, 장상피형 위선암에서 58%로 발현이 증가된다고 보고된 바 있다(17,29). 더구나 COX-2 단백질은 정상 점막에 비하여 위암 조직에서 상대적으로 높게 발현되어, COX-2의 과발현은 위암의 예후와 밀접한 관련이 있다(6,32). 이러한 결과는 전암 병소에서부터 COX-2의 발현이 증가되고 증가된 COX-2와 이 효소에 의한 대사 산물이 위암 발생 및 진전에 결정적인 기여를 한다고 추측할 수 있으며, 따라서 이 효소의 활성을 억제함으로써 위암 발생을 감소시킬 수 있는 근거가 된다.

Nitric oxide (NO)는 혈관확장, 신경전달, 숙주방어, 철 대사 등에 관여하는 중요한 물질이나 과량의 NO 형성은 암을 포함하는 여러 질환의 병인과 관련되어 있다(7). NO는 종양발생에 관여하는 nitrosamine 생성, DNA 손상, 만성염증과 관련된 조직손상의 매개체로 작용하여 종양발생에 중요한 역할을 할 것이라고 추측하고 있다(12,23,24,38). 이러한 NO는 nitric oxide synthase (NOS)에 의해 생성되며 NOS는 상재성으로 발현되는 칼슘 의존성의 isoform(nNOS, eNOS)과 칼슘 비의존성의 유도성 isoform(iNOS)이 있다.

이 중 iNOS는 nNOS, eNOS에 비해 훨씬 높은 농도의 NO를 생성하며(37), 지질다당체로(lipopolysaccharide, LPS)로 자극한 각종 세포에서 발현될 뿐만 아니라 침습성 세균에 감염된 상피세포 또는 IL-1과 같은 cytokine의 자극에 의해서도 발현이 증가한다(39).

최근 보고에 의하면(10,30) *H. pylori* 감염에 의한 위염에서도 iNOS의 발현이

증가되는 것으로 알려져 있다. *H. pylori* 감염에 의해 위상피세포에 만성 면역자극을 유도하게 되어 NO의 합성을 증가시키는 것으로 생각된다(31).

결국 *nitric oxide*의 형성이 위점막조직에서 DNA손상과 세포사멸을 유도하게 되는 것으로 본다. *H. pylori*에 의해 이러한 DNA의 변이가 발생 되었을 때, 만성위축성위염과 위암의 발생으로 진행되기 위해서는 위 점막선(gland)에서의 *stem cell* 파괴가 일어나고, 이것이 지속되어 위축성위염으로 진전 될 수 있을 것으로 생각되고, 이러한 세포손상을 위해서는 *nitric oxide*가 산화되어 ONOO⁻ 와 같은 보다 반응적인 라디칼(radical)의 형성이 필요한 것으로 생각된다.

또한 위점막에 존재하는 림프구는 *H. pylori* 감염에 의해 IL-1과 *interferon* (IFN)- γ 와 같은 침염증성 *cytokine*을 발현하며(15), T세포는 *H. pylori* 감염과 관계없이 많은 양의 IFN- γ 를 생성해 낼 수 있다고 알려져 있다(16). 이와 같은 IL-1과 IFN- γ 는 몇몇 종류의 상피세포에서 iNOS 발현을 증가시킬 수 있다. 그러나 아직까지 *H. pylori*가 위상피세포에서 COX-2와 iNOS를 어떻게 유도하는지에 대해서는 확실하게 규명되어 있지 않다. 뿐만 아니라 위상피세포와 염증세포 사이의 상호관계에 대해서도 확실하게 알려진 바가 없다.

최근 *H. pylori*와 COX-2, iNOS 각각의 상관관계를 확인한 연구들은 있으나, 위장관질환을 단계별로 분류하여 *H. pylori* 감염과 관련하여 COX-2와 iNOS의 상관관계를 보고한 자료는 찾기 힘들다.

본 연구에서는 조직표본파일을 검토하여, 위장관 질환을 단계별로 나누어 *H. pylori* 감염 양성군, 음성군 두 그룹으로 분류한 후 면역조직화학염색을 통해 위장관질환의 단계별로 *H. pylori* 감염에 의한 COX-2, iNOS 발현율을 비교분석하여 *H. pylori* 감염과 위암과의 상관관계를 조사해 보았다.

제 2 장 재료 및 방법

1. 환자 및 임상 검체 수집

강릉아산병원에서 2002년에서 2006년 4월까지 위내시경을 받은 환자의 조직표본 파일을 검토하여 만성활동성위염, 위축, 장형화생, 이형성증, 위선암 5단계로 분류하여 단계별로 무작위로 만성활동성위염에서 20예, 위축에서 17예, 장형화생에서 19예, 이형성증에서 20예, 위선암에서 20예 총 96예를 사용하였으며, 이중 *H. pylori* 양성군은 51예, 음성군은 45예 였다. 남자가 50예, 여자가 46예 였고, 연령분포는 27세에서 88세까지 였으며, 평균연령은 57세 였으며, *H. pylori* 양성군의 평균연령은 53세, 음성군의 평균연령은 61세 였다.

2. Hematoxylin & Eosin 염색

파라핀 포매조직을 3 μm 두께로 잘라, 60℃ 신전기에서 15분간 가온한 후 xylene으로 파라핀을 제거하였고, 5단계의 95% 알콜에서 순차적으로 5분간 처리 후 수세하였다. Hematoxylin에서 6분간 반응 후 1% HCl에서 5초간 탈색 후 수돗물에 5분간 수세하였다. Eosin에서 2분 30초간 염색 후 5단계의 100% 알콜에서 순차적으로 5분간 탈수 후 xylene 과정 후 봉입하여 광학현미경(Laeopoto-2, Nikon, Tokyo, Japan)으로 검경하였다.

3. Warrthin Starry 염색

96명 환자의 파라핀 포매조직을 3 μm 두께로 잘라 슬라이드에 붙여 60℃ 신전기에서 15분간 가온한 후 탈파리핀, 함수, 수세과정을 거쳐 60℃ dry oven에서 30분간 1% silver nitrate buffer에 반응시켰다.

실온에서 미리 warming시켜둔 0.15% hydroquinone과 5% gelatin, 2% silver nitrate를 혼합한 후 1~2분간 반응하여 발색 시켰다.

수세 후 100% 알콜에서 탈수과정을 거쳐 xylene과정 후 봉입하여 광학현미경(model 동일)으로 검정하였다(Figure. 1).

H. pylori 감염정도는 위점막상피세포 부근에 *H. pylori* 세균이 산발적으로 발견 될 경우 mild, 한 개의 층으로 배열 될 경우 moderate, 두 개층 이상으로 배열 될 경우를 severe로 진단하였다.

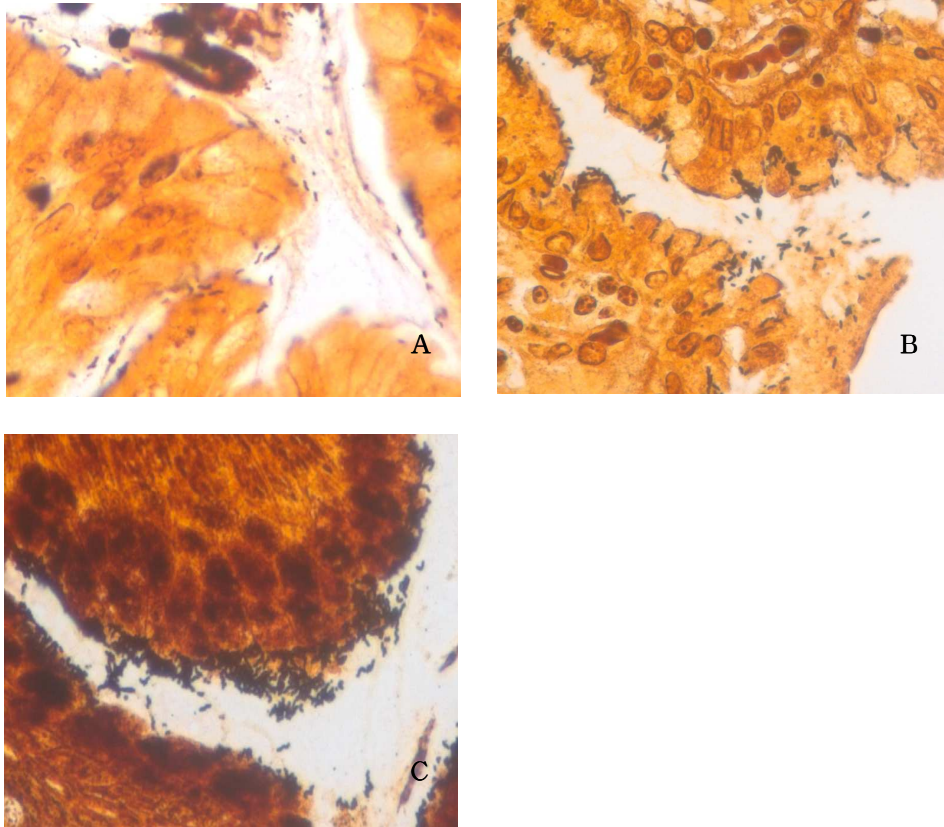


Figure. 1. *H. pylori* with Warthin Starry stain.

(A) mild infection, (B) moderate infection, (C) severe infection.

4. 면역조직화학염색

파라핀 포매조직을 3 μm 두께로 잘라, 60°C 신전기에서 1시간 가온한 후 *xylene*으로 파라핀을 제거하였고, 5단계의 95% 알콜에서 순차적으로 5분간 처리 후 증류수로 함수시켰다. 항원이 잘 노출 될 수 있도록 *pH* 6.0 *citrate buffer*에 5분간 2회 *microwave* 처리 후 상온에서 식혔고, 내인성 *peroxidase*의 활동을 억제하기 위해 3% 과산화수소를 투여 후 TBS *buffer*에 10분간 수세하였다. 다시 일차항체 COX-2(1:50, *monoclonal mouse anti-Cox-2 IgG*, Novocastra, Newcastle, England), iNOS(1:50, *polyclonal rabbit anti-iNOS IgG*, Neomarker, Fremont, California, U.S.A.) 를 각각 30분간 상온에서 반응시켰다. TBS *buffer*로 10분간 수세후 2차항체(REALTM EnVisionTM/HRP, Rabbit/Mouse, Dako, Glostrup, Denmark) 로 30분간 반응 시킨후 TBS *buffer*로 10분간 수세하였다. 2차항체 대신 증류수를 처리하여 음성대조군으로 사용하였으며 양성대조군으로는 COX-2 는 강하게 염색된 위암조직을 iNOS는 폐 조직을 각각 대조군으로 하였다. 발색제(REALTM DAB+Chromogen, Dako, Glostrup, Denmark)를 이용하여 5분간 발색시킨 다음 *Hematoxylin*으로 대조염색 후 수세, 100% 알콜, *xylene* 과정 후 봉입하여 광학현미경(model 동일)으로 검경하였다.

5. *Histological scoring*

COX-2와 iNOS 발현은 위점막상피의 핵 주위 염색의 강도와 염색된 세포수의 면적을 기준으로 염색의 강도를 약양성, 중등도양성, 강양성으로 세분화하였고 면적은 광학현미경을 이용하여 400배의 배율에서 전체 1,000개의 세포 중 염색된 세포 수를 백분율로 표시하여 양성세포가 없는 경우에 0점, 10% 이하 부위에서 약양성 또는 중등도의 염색강도를 보이거나, 1% 이하 부위에서 강양성의 강도를 보이는 경우에 1점, 10~50% 부위에서 약양성 또는 중등도의 염색강도를 보이거나 1~10% 부위에서 강양성의 염색강도를 보이는 경우에 2점, 50% 이상 부위에서 약양성 또는 중등도의 염색강도를 보이거나 10% 이상 부위에서 강양성의 염색 강도를 보이는 경우에 3점으로 각각 분류한 후 0, 1점을 음성군, 2, 3점을 양성군으로 나누어 통계 처리하였다.

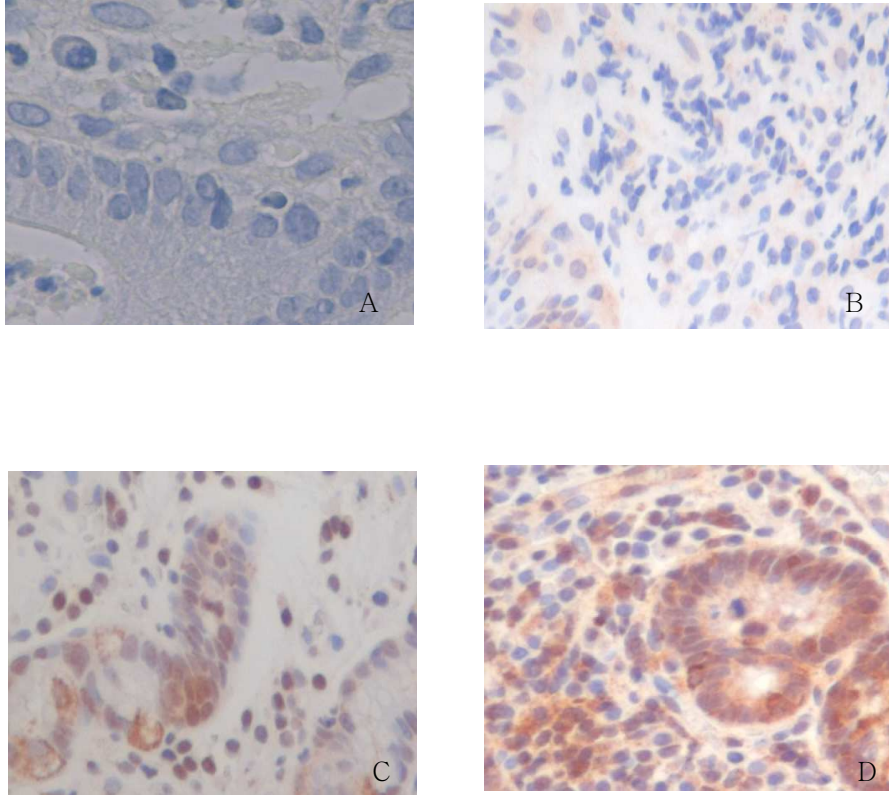


Figure. 2. *Expression of COX-2 with immunohistochemical stain according to the histological score. (A) COX-2 negative control, (B) COX-2 weak expression negative, (C) COX-2 moderate positive, (D) COX-2 strong positive.*

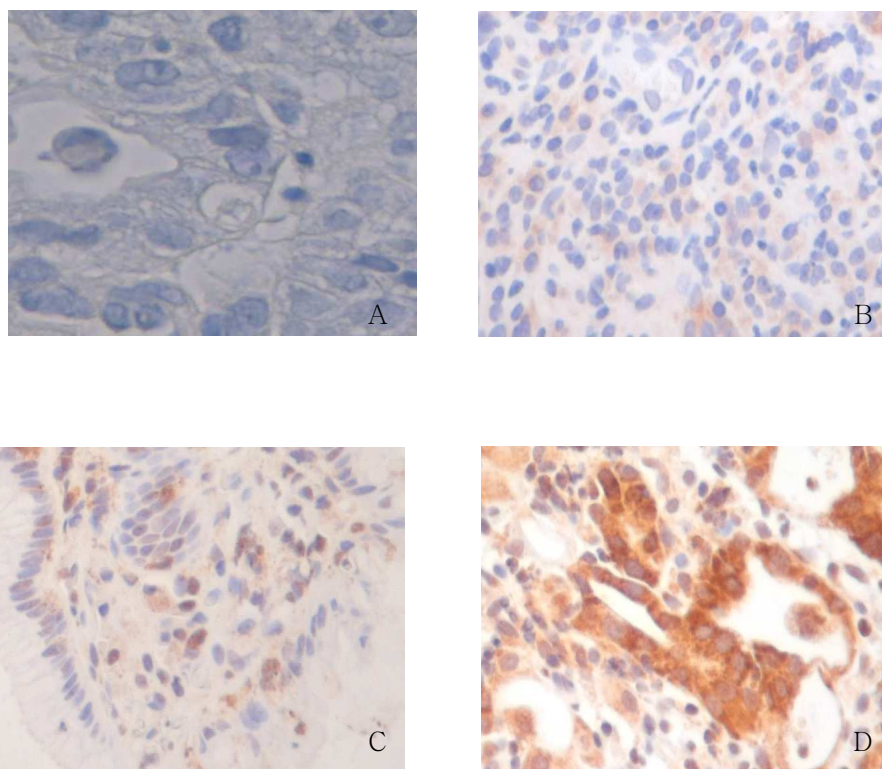


Figure. 3. Expression of iNOS with immunohistochemical stain according to the histological score. (A) iNOS negative control, (B) iNOS weak expression negative, (C) iNOS moderate positive, (D) iNOS strong positive.

6. 통계 처리

통계 패키지인 The SAS system을 사용하였으며, 분석방법으로는 *Mantel-Hannszel χ^2 test* 와 *Spearman's correlation test*를 같이 사용하였으며, 통계학적 유의수준은 $p < 0.05$ 하였다.

제 3 장 연구성적

1. 위장관질환 단계별 나이, 성별 분포

본 실험에 사용된 위내시경 검체는 *H. pylori* 양성인 51예, 음성인 45예였으며, 전체 평균연령은 57세였고, 남자는 56세, 여자는 60세였다. 나이에 따른 분포는 평균나이 57세를 기준으로 하여 57세 이상이 49예였고, 57세 이하가 47예였다. 성별에 따른 분포는 남자가 50예, 여자가 46예로 나타났다.

Table 1. Clinical profile of the studied groups

		Chronic active gastritis	Atrophy	Intestinal metaplasia	Dysplasia	Adeno- carcinoma	Total
<i>H. pylori</i>	Positive	11	10	10	10	10	51
	Negative	9	7	9	10	10	45
Age	>57	6	6	11	12	14	49
	≤57	14	11	8	8	6	47
Gender	Male	6	8	9	12	15	50
	Female	14	9	10	8	5	46

2. 면역조직화학염색을 통한 COX-2의 발현 확인

면역조직화학염색에서 상피세포, 종양세포, 염증세포의 핵과 세포질에서 Cox-2 발현이 양성으로 염색되었으며(Figure. 4) 전체 96예의 환자 중 양성으로 나온 경우는 21예로 21.9%를 차지하였다. 이중 약양성은 4예, 중등도양성은 11예, 강양성은 6예로 나타났으며, *H. pylori* 양성군에선 51예 중 18예, 음성군에선 45예 중 3예가 양성으로 나타났다. 두 군간 통계학적으로 높은 유의성이 관찰되었다($p < 0.0001$).

또한 *H. pylori* 양성군의 경우 이형성증과 위선암에서 각각 10예 중 5예, 10예 중 6예로 전단계에 비해 높게 나타났다.

Table 2. COX-2 expression in gastric diseases

	Chronic active gastritis	Atrophy	Intestinal metaplasia	Dysplasia	Adeno- carcinoma	Total	<i>p</i> value
<i>H. pylori</i> positive	1/11	3/10	3/10	5/10	6/10	18/51	<0.0001
<i>H. pylori</i> negative	0/9	1/7	0/9	0/10	2/10	3/45	

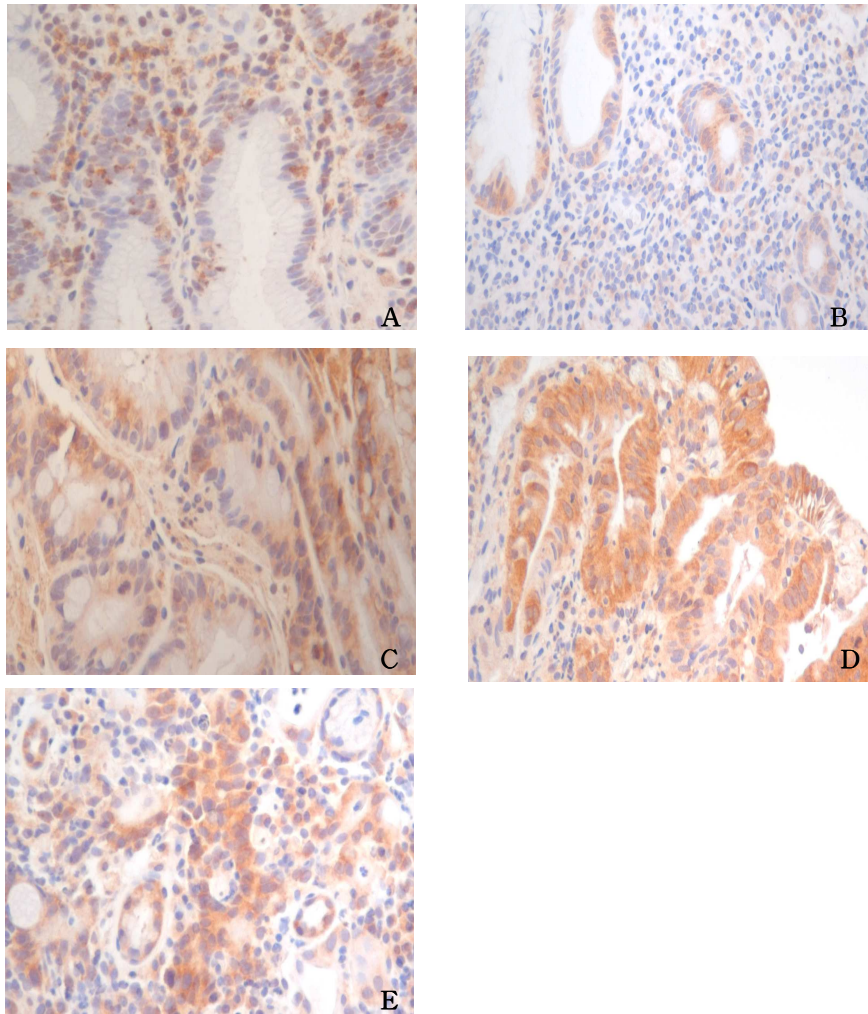


Figure. 4. Expression of COX-2 with immunohistochemical stain according to the clinical stage. (A) chronic active gastritis, (B) atrophy, (C) intestinal metaplasia, (D) dysplasia, (E) adenocarcinoma.

3. COX-2 양성 발현과 나이, 성별과의 상관관계

연령에 따른 COX-2 양성 발현은 57세 이상이 21예 중 12예, 57세 이하가 9예로 나타났다으며, 만성활동성위염에서 위선암으로 진행 될수록 증가하는 경향은 있었으나, 두 군간의 통계학적 유의성은 관찰되지 않았다($p < 0.2482$).

성별에 따른 COX-2의 발현은 남자가 21예 중 11예, 여자가 10예로 두 군간의 통계학적 유의성은 관찰되지 않았다($p < 0.1668$).

Table 3. Relationships between COX-2 expression and age or sex

		Chronic active gastritis	Atropy	Intestinal metaplasia	Dysplasia	Adeno- carcinoma	Total	<i>p</i> value
Age	>57	0	2	1	4	5	12	0.2482
	≤57	1	2	2	1	3	9	
Gender	Male	0	1	3	1	6	11	0.1668
	Female	1	3	0	4	2	10	
Total		1	4	3	5	8	21	

4. 면역조직화학염색을 통한 iNOS의 발현 확인

면역조직화학염색에서 상피세포, 종양세포, 염증세포의 핵과 세포질에서 iNOS 발현이 양성으로 염색 되었으며(Figure.5), 전체 96예의 환자 중 양성으로 나온 경우는 44예로 45.8%를 차지하였다. 이중 약양성은 4예, 중등도양성은 28예, 강양성은 12예로 나타났으며, *H. pylori* 양성군에선 51예 중 28예, 음성군에선 45예 중 16예가 각각 양성으로 나타났다. *H. pylori* 양성군이 음성군에 비해 증가하는 경향은 있었으나, 통계학적 유의성은 관찰되지 않았다($p<0.2073$). 그러나 *H. pylori* 양성군의 경우 이형성증과 위선암에서 각각 10예 중 7예, 10예 중 9예로 나타났으며, *H. pylori* 음성군의 경우 위선암에서 10예 중 7예로 전단계에 비해 높게 나타났다.

Table 4. iNOS expression in gastric diseases

	Chronic active gastritis	Atrophy	Intestinal metaplasia	Dysplasia	Adeno- carcinoma	Total	p value
<i>H. pylori</i> positive	4/11	6/10	2/10	7/10	9/10	28/51	0.2073
<i>H. pylori</i> negative	1/9	3/7	2/9	3/10	7/10	16/45	

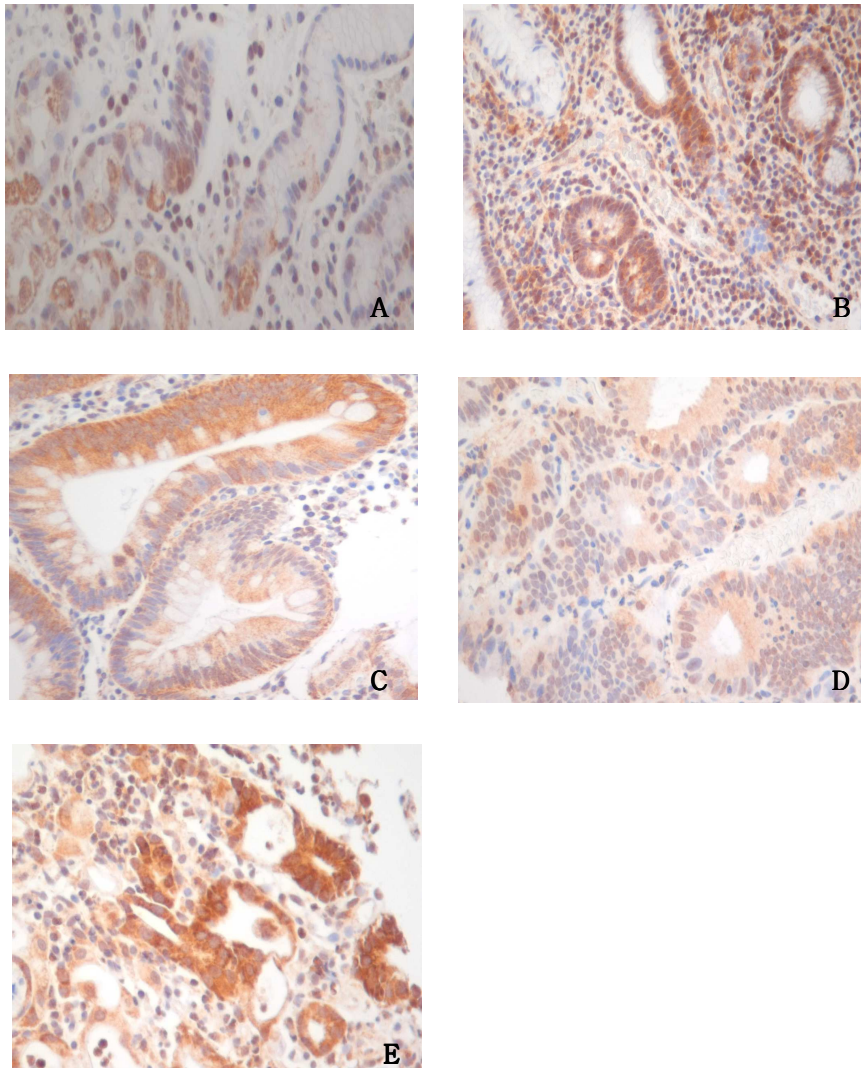


Figure. 5. Expression of iNOS with immunohistochemical stain according to the clinical stage. (A) chronic active gastritis, (B) atrophy, (C) intestinal metaplasia, (D) dysplasia, (E) adenocarcinoma.

5. iNOS 양성 발현과 나이, 성별과의 상관관계

연령에 따른 iNOS 양성 발현은 57세 이상이 44예 중 21예, 57세 이하가 23예로 나타났다으며, 57세 이상의 경우 만성활동성위염에서 위선암으로 진행 될수록 유의하게 증가하여, 57세 이하와 비교하여 두 군간의 통계학적 유의성이 관찰되었다($p<0.0036$).
성별에 따른 iNOS의 발현은 남자가 44예 중 28예, 여자가 16예로, 두 군간의 통계학적 유의성이 관찰되었다($p<0.0018$).

Table 5. Relationships between iNOS expression and age or sex

		Chronic active gastritis	Atropy	Intestinal metaplasia	Dysplasia	Adeno- carcinoma	Total	<i>p</i> value
Age	>57	0	2	3	5	11	21	0.0036
	≤57	5	7	1	5	5	23	
Gender	Male	4	3	2	6	13	28	0.0018
	Female	1	6	2	4	3	16	
Total		5	9	4	10	16	44	

6. COX-2 와 iNOS 양성 발현의 상관관계

H. pylori 양성군에서 COX-2가 양성이면서 동시에 iNOS가 양성인 예는 전체 COX-2 양성 18예 중 17예로 94.4%를 차지하였다. COX-2가 양성인데 iNOS는 음성인 경우는 단 1예(5.6%) 뿐이었다. 반면 COX-2가 음성인 경우에는 iNOS 양성, 음성이 각각 11예, 22예로 나타났다.

Table 6. Correlation between COX-2 and iNOS expression of *H. pylori* positive groups in gastric diseases

	iNOS	Chronic active gastritis	Atropy	Intestinal metaplasia	Dysplasia	Adeno- carcinoma	Total
COX-2	+	1	3	2	5	6	17
	-	-	-	1	-	-	1
	+	3	3	0	2	3	11
	-	7	4	7	3	1	22
Total		11	10	10	10	10	51

7. *H. pylori* 감염 정도와 COX-2, iNOS 양성 발현과의 상관관계

COX-2 양성 18예 중 *H. pylori* 감염정도가 mild, moderate, severe 각각 7예, 9예, 2예로 나타났으며, mild 군과 moderate 이상군 두 군간의 통계학적 유의성은 관찰되지 않았다($p < 0.4987$). iNOS 양성 28예 중 *H. pylori* 감염정도가 mild, moderate, severe 각각 8예, 14예, 6예로 나타났으며, 두 군간의 통계학적 유의성은 관찰되지 않았다($p < 0.1790$).

Table 7. Relationships between the degree of *H. pylori* infection and the expression of COX-2 and iNOS in gastric diseases

	Grade	Chronic active gastritis	Atropy	Intestinal metaplasia	Dysplasia	Adeno-carcinoma	Total	p value
COX-2	mild	1/4	0/2	1/3	3/4	2/4	7/17	0.4987
	moderate	0/4	3/7	2/5	1/3	3/4	9/23	
	severe	0/3	0/1	0/2	1/3	1/2	2/11	
iNOS	mild	1/4	0/2	0/3	3/4	4/4	8/17	0.1790
	moderate	2/4	5/7	2/5	2/3	3/4	14/23	
	severe	1/3	1/1	0/2	2/3	2/3	6/11	

제 4 장 고 찰

*H. pylori*의 감염과 위암 발생과의 관계에 대한 지금까지의 연구 결과는 매우 미흡한 수준이다. 많은 연구에서 *H. pylori*의 감염이 위암 발생에 중요한 역할을 할 수 있음을 보고(9,13,19,25)하고는 있으나, *H. pylori*의 감염이 직접적으로 위암의 발생에 관여하고 있다는 증거는 확인되지 않고 있다. 동물 모델을 통한 실험적 연구(33,36) 역시 위암의 발생 과정을 추정하는데 유용한 자료를 제공할 수는 있으나, 인간의 위암 발생에 적용하는 데는 한계가 있다. 그리고 *H. pylori* 감염에 동반되어 발생되는 유전자 변이(4,27) 역시 현재로서는 매우 제한적인 결과를 나타내고 있다. 즉, 위암의 발생에는 다단계적 변이가 참가할 것으로 예상되기 때문이다. 지금까지의 많은 연구 결과에도 불구하고 *H. pylori*의 감염과 위암과의 관련성에는 많은 의문이 있다.

최근 *H. pylori* 감염에 의한 COX-2와 iNOS의 발현과 위암 발암과정과의 관련설에 대한 보고(10,21,27,44)들이 주목받고 있다. 그러나 *H. pylori*가 위암에 어떤 영향을 미치는지, 위암의 상피조직에서의 COX-2와 iNOS의 발현이 어떻게 유도되는지에 대해서는 정확하게 알려진 바가 없으며 COX-2, iNOS의 발현과 위암의 병기 및 조직 소견과의 상관관계를 확인하지 못하였고 이에 대한 폭넓은 연구를 필요로 한다.

본 연구에선 2002년부터 2006년 4월까지 강릉아산병원 소화기내과에서 내시경을 받은 환자의 조직표본파일을 검토하여, 위장관질환을 단계별로 나누어 *H. pylori* 감염 양성군, 음성군 두 그룹으로 분류한 후 면역조직화학염색을 통해 위장관질환의 단계별로 *H. pylori* 감염에 의한 COX-2, iNOS 발현율을 비교분석하여 *H. pylori* 감염과 위암과의 상관관계를 알아보고자 하였다.

COX-2의 경우 *H. pylori* 양성군이 음성군에 비해 유의한 증가가 있었다($p<0.0001$). 또한 만성활동성위염에서 위선암으로 진행 될수록 증가하는 경향을 보였으며, 특히 양성군에선 이형성증과 위선암에서 전단계에 비해 높게 발현되어 *H. pylori* 감염에 의한 COX-2의 발현이 위암의 발암과정에 영향을 미치는 것으로 추정할 수 있었다.

이는 *H. pylori*에 감염된 위염 환자에서 감염되지 않은 경우에 비해 COX-2 발현이 증가 되어있다는 Ramanujam(10)의 보고와 일치하며, *H. pylori* 양성군에서 만성활동성위염 초기에서 위선암으로 진행 될수록 COX-2의 발현이 유의하게 증가함은 COX-2가 비교적 발암 과정의 초기부터 위암까지 전 단계에 걸쳐 관여하고(40), 위암뿐만 아니라 위암의 전암병변 즉 이형성증과 위선암에서 비전암병변과 비교하여 발현이 증가된다는 보고(17,29)와 일치한다.

또한 Takahashi 등(33)은 *H. pylori* 감염을 시킨 mongolian gerbil에서 COX-2 발현을 조사하여 본 바, *H. pylori* 감염 후 위점막에서 유의하게 COX-2 발현이 증가됨을 관찰하여 상기의 위점막 세포주에서 얻은 실험실 소견인 *H. pylori* 감염이 COX-2 발현을 직접적으로 증가시킨다는 사실을 생체내에서 증명하였다. 이러한 사실들은 COX-2가 위암의 발생에 직접적으로 관여하고 있음을 시사한다(41).

*H. pylori*는 위점막 상피세포에서 직접적으로 iNOS를 유발할 수 있다고 보고 되었으며(43), *H. pylori* 감염이 있는 경우 iNOS의 발현이 더 증가된다는 보고도 있다(20,21). 그러나 *H. pylori*의 감염유무와 iNOS의 발현과는 유의한 상관관계가 없다는 보고가 있으며(26), 또한 *H. pylori* 농도와 깊은 관련이 있을 것으로 생각되는 IL-8 mRNA의 발현(2)과 iNOS 발현에는 서로 상관관계가 없다는 보고(34)도 있어, iNOS의 발현과 *H. pylori* 감염과의 관계는 결론을 내리기 어렵다.

본 연구에서도 *H. pylori* 감염 양성군이 음성군에 비해 높게 나왔지만 통계학적으로 유의한 결과는 관찰되지 않았다($p < 0.0073$). 양성군에서 높게 나온 결과는 Mannick 등(21)이 *H. pylori* 감염으로 endogenous reactive nitrogen intermediates에 의해 DNA 손상과 세포사멸을 일으킨다는 보고가 뒷받침한다. 또한 *H. pylori* 양성군에선 이형성증과 위선암에서, 음성군에선 위선암에서 각각 전단계에 비해 높게 발현이 되어, iNOS의 발현이 *H. pylori* 감염과 상관관계는 높지 않지만 COX-2와 마찬가지로 위암의 발암과정에 영향을 미치는 것으로 추정되었다. 또한 위선암 그룹에서 *H. pylori* 양성군과 음성군 모두가 iNOS 발현율이 높게 나온것은 여러 암에서 iNOS의 증가 보고와 일치한다.

성별에 따른 iNOS의 발현의 차이는 만성활동성위염에서 위선암으로 진행 될수

록 남자가 여자에 비해 통계학적 유의성이 관찰되었다($p<0.0018$). 한 연구에서는 여성 호르몬에 의해 화학주성이나 *free radical*의 생성 등과 같은 호중구의 기능이 감소되면(5) 호중구의 침윤이 감소하여 여러 염증세포의 자극에 의해 생성되는 iNOS의 발현이 감소될 가능성이 있다고 추정하였다.

나이가 증가함에 따른 iNOS의 발현의 차이 또한 57세 이상에서 만성활동성위염에서 위선암으로 갈수록 유의하게 증가하였다($p<0.0036$). 이는 만성위축성위염의 기간이 길수록 장형화생 아형 중 암으로 진행될 가능성이 높은 *sulphomucin* 분비형인 제3형으로 진행될 가능성이 높으며(11), 또한 기간이 길수록 그만큼 장형화생의 범위가 커져 위암으로 진행 될 확률이 높아질 것으로 추정된다.

H. pylori 감염과 COX-2, iNOS의 상관관계에 있어, COX-2가 발현 될 경우 iNOS도 거의 동시에 발현이 되었으며($p<0.0001$), 만성활동성위염에서 위선암쪽으로 진행 될수록 증가하였다. 이는 COX-2는 염증반응 과정 중에 발현이 되며, iNOS는 *H. pylori* 감염에 의해 COX-2가 먼저 발현된 후 염증세포에 의해 iNOS가 생성되어, 두 단백질이 위암 발생을 가속화 시키는데 synergy작용을 하는 것으로 생각되지만, 아직까지 위점막 상피세포에서의 COX-2와 iNOS 발현 기전이 명확히 밝혀지지 않아, 두 인자들의 상호간의 작용을 규명하기 위해서는 추후 더 많은 예에서 폭넓은 연구가 필요할 것으로 생각한다.

또 본 연구에선 *CagA*나 *VacA*를 조사하진 않았지만, *H. pylori* 감염은 *CagA*나 *VacA* 상태에 무관하게 COX-2 mRNA 및 COX-2 단백질의 발현증가 및 이에 따른 PGE2를 증가시켜 준다는 사실과, 증가된 COX-2 발현의 결과에 의하여 *apoptosis*가 감소된다는 보고(27)가 있는 반면, Blaser 등의(4) 보고에 의하면 *H. pylori*의 *CagA*를 가진 *H. pylori* 감염환자는 IL-1, IL-6, IL-8 과 TNF와 같은 cytokine을 유도하여, 대식세포와 호중구의 활성화에 의해 iNOS의 생산에 영향을 미쳐 위선암의 위험증가와 관련이 있다고 보고하여(1), 향후 *CagA*, *VacA*와 COX-2, iNOS 관계에 대해 좀 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

또한 일반적으로 소화기내과에서는 위생검시 위전정부와 체부에서 각각 두조각씩 채취하고, 부위 또한 전정부의 경우 소만의 원위부, 대만의 근위부를 제안하고 있으며 생검수에 따라서도 *H. pylori*의 검출율의 차이가 있을 수 있다고 보고

있으나, 본 실험에선 생검수는 데이터에 반영되지 않았으며, 조직의 정확한 채취 부위 또한 기록이 미비하여 반영되지 못했다.

본 연구 결과를 종합해 보면, *H. pylori* 감염과 COX-2의 발현과는 높은 유의성이 관찰 되었지만, iNOS는 증가하는 경향은 있었으나 통계학적 유의성은 관찰되지 않았다. 그러나 COX-2, iNOS 모두 만성활동성위염에서 위선암으로 진행 될수록 증가하여, *H. pylori* 감염에 의한 COX-2, iNOS의 발현이 위암의 발암진행을 가속화 할 것으로 추정된다.

본 연구에선 Warthin Starry 염색법에 의한 *H. pylori* 검출과 면역조직화학염색을 통한 COX-2, iNOS의 발현을 조사하였지만, 향후 좀 더 많은 예를 대상으로 민감도가 높은 *H. pylori* 검출법과, COX-2, iNOS의 정량적 측정이 함께 연구 되어야 할 것으로 생각된다.

제 5 장 결 론

본 연구에서는 *H. pylori* 감염 양성군 51예, 음성군 45예를 위장관질환 단계별로 임의적으로 선택하여 면역조직화학검사를 통해 cyclooxygenase-2(COX-2)와 inducible nitric oxide synthase(iNOS)의 발현을 비교 분석하여, *H. pylori* 감염에 의한 COX-2와 iNOS 발현과 위암과의 상관관계를 알아보고자 하였다.

COX-2는 *H. pylori* 감염 양성군이 음성군에 비해 높은 유의성이 관찰되었으며, 특히 전암단계와 암단계에서 전단계에 비해 높게 발현이 되어, *H. pylori* 감염에 의한 COX-2의 발현이 위암의 발암과정에 관련이 있을 것으로 추정할 수 있었다.

iNOS는 *H. pylori* 감염 양성군이 음성군에 비해 증가하는 경향은 있었으나, 통계학적 유의성은 관찰되지 않았다. 그러나 COX-2와 마찬가지로 *H. pylori* 감염 양성군에선 이형성증과 위선암 단계에서, 음성군에선 위선암 단계에서 각각 전단계에 비해 높게 발현이 되어 *H. pylori* 감염과의 상관관계는 낮지만, 위암의 발암과정에 관련이 있을 것으로 추정할 수 있었다. COX-2와 iNOS 발현의 상관관계에 있어서는 *H. pylori* 양성군중 COX-2양성의 경우 iNOS의 양성율이 94%를 넘어 서로 밀접한 상관성을 보였다 ($p < 0.0001$).

결론적으로 *H. pylori* 감염에 의해 COX-2가 과발현이 된 후 iNOS가 염증세포에 의해 뒤이어 발현이 됨으로써, *H. pylori* 감염에 의한 COX-2, iNOS의 발현이 위암의 발생을 가속화 시키는데 중요한 역할을 할 것으로 추정된다.

참 고 문 헌

1. Albina JE, Abate JA, Henry WL: Nitric oxide production is required for murine resident peritoneal macrophages to suppress mitogenstimulate T cell proliferation. Role of IFN- γ in the induction of the nitric oxide synthesizing pathway. J. Immunol, 147:144-148, 1991
2. Ando T, Kusugami K, Ohsuga M, Shinoda M, Sakakibara M, Saito H, Fukatsu A, Ichiyama S, Ohta M: Interleukin-8 activity correlates with histological severity in *Helicobacter pylori*-associated antral gastritis. Am J Gastroenterol, 91:1150-1156, 1996
3. Blaser MJ: Hypotheses on the pathogenesis and natural history of *Helicobacter pylori* -induced inflammation. Gastroenterology, 102:720-727 1992
4. Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleanthous H, Cover TL, Peek RM, Chyou PH, Stemmermann GN, and Nomura A: Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing *cagA* is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. Cancer Res, 55:2111-2115, 1995
5. Buyon JP, Korchak HM, Rutherford LE, Ganguly M, Weissmann G: Female hormones reduce neutrophil responsiveness in vitro. Arthritis Rheum, 27:623-630, 1984
6. Buskens CJ, Van Rees BP, Sivula A, et al: Prognostic significance of elevated cyclooxygenase-2 expression in patients with adenocarcinoma of the esophagus. Gastroenterology, 122:1800-1807, 2002

7. Cobbs CS, Brenman JE, Aldape KD, Bredt DS, Israel MA: Expression of nitric oxide synthase in human central nervous system tumors. *Cancer Res*, 55:727-730, 1995

8. Estevens J, Fidalgo P, Tendeiro T, Chagas C, Ferra A, Leita CN, Mira FC: Anti-*Helicobacter pylori* antibodies prevalence and gastric adenocarcinoma in Portugal: report of a case-control study. *Eur J Cancer Prev*, 2:377-380, 1993

9. Forman D, Newell DG, Fullerton F, Yarnell JW, Stacey AR, Wald N, Sitas F: Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. *BMJ*, 302:1302-1305, 1991

10. Fu S, Ramanujam KS, Wong A, Fantry GT, Drachenberg CB, James SP, Meltzer SJ, Wilson K: Increased expression and cellular localization of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in *Helicobacter pylori* gastritis. *Gastroenterology*, 116:1319-1329, 1999

11. Ectors N, Dixon MF: The prognostic value of sulphomucin positive intestinal metaplasia in the development of gastric cancer. *Histopathology*, 10:1271-1277, 1986

12. Grisham MB, Ware K, Gilleland HE Jr, Gilleland LB, Abell CL, Yamada T: Neutrophil-mediated nitrosamine formation: role of nitric oxide in rats. *Gastroenterology*, 103:1260-1266, 1992

13. Huang JQ, Sridhar S, Chen Y, Hent RH: Meta-analysis of the relationship between *Helicobacter pylori* seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology*, 114:1169-1179, 1998

14. International Agency for Research on Cancer . Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori* IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Vol 61 Lyon, France: IARC, 1994

15. Ihan A, Tepez B, Gubina M, Malovrh T, Kopitar A: Diminished interferon- γ production in gastric mucosa T lymphocytes after *Helicobacter pylori* eradication in duodenal ulcer patients. *Hepatogastroenterology*, 46:1740-1745, 1999

16. Itoh T, Wakatsuki Y, Yoshida M, et al: The vast majority of gastric T cells are polarized to produce T helper 1 type cytokines upon antigenic stimulation despite the absence of *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterol*, 34:560-570, 1999

17. Joo YE, Oh WT, Rew JS, Park CS, Choi SK, Kim SJ: Cyclooxygenase-2 expression is associated with well differentiated and intestinal-type pathways in gastric carcinogenesis. *Digestion*, 66:222-229, 2002

18. Kolios G, Brown Z, Robson RL, Robertson DA, Westwick J: Inducible nitric oxide synthase activity and expression in a human colonic epithelial cell line, HT-29. *Br J Pharmacol*, 116:2866-2872, 1995

19. Lin JT, Wang LY, Wang JT, Wang TH, Yang CS, Chen CJ: A nested case-control study on the association between *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer risk in a cohort of 9775 men in Taiwan. *Anticancer Res*, 15:603-606. 1995

20. Li CQ, Pignatelli B, Ohshima H: Coexpression of interleukin-8 and inducible

nitric oxide synthase in gastric mucosa infected with *cagA*⁺ *Helicobacter pylori*. Dig Dis, Sci 45:55-62, 2000

21. Mannick EE, Bravo LE, Zarama G, Realpe JL, Zhang XJ, Ruiz B, Fontham ET, Mera R, Miller MJ, Correa P: Inducible nitric oxide synthase, nitrotyrosine, and apoptosis in *Helicobacter pylori* gastritis: effect of antibiotics and anti-oxidants. Cancer Res, 56:3238-3243, 1996

22. Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Kato I, Perez-Perez GI, Blaser MJ: *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. N Engl J Med, 325:1132-1136. 1991

23. Nguyen T, Brunson D, Crespi CL, Penman BW, Wishnok JS, Tannenbaum SR: DNA damage and mutation in human cells exposed to nitric oxide in vitro. Proc Natl Acad Sci U S A, 89:3030-3034, 1992

24. Ohshima H, Bartsch G: Chronic infections and inflammatory processes as cancer risk factors: possible role of nitric oxide in carcinogenesis. Mutat Res, 305:253-264, 1994

25. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, et al: *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. N Engl J Med, 325:1127-1131. 1991

26. Pignatelli B, Bancel B, Esteve J, Malaveille C, Calmels S, Correa P, Patricot LM, Laval M, Lyandrat N, Ohshima H: Inducible nitric oxide synthase, anti oxidant enzymes and *Helicobacter pylori* infection in gastritis and gastric precancerous lesions in humans. Eur J Cancer Prev, 7:439-447, 1998

27. Romano M, Ricci V, Memoli A, Tucillo C, Di Popolo A, Sommi P, Acguaviva AM, Di Vecchi; Blanco C, Bruni CB, Zarrilli R: *Helicobacter pylori* upregulates cyclooxygenase-2 mRNA expression and prostaglandin E2 synthesis in MKN gastric mucosal cells in vitro. J Biol Chem, 273:28560–28563, 1998

28. Sipponen P, Kosunen TU, Valle J, Riihela M, Seppale K: *Helicobacter pylori* infection and chronic gastritis in gastric cancer. J Clin Pathol, 45:319–323. 1992

29. Saukkonen K, Nieminen O, van Rees B, et al: Expression of cyclooxygenase-2 in dysplasia of the stomach and in intestinal-type gastric adenocarcinoma. Clin Cancer Res, 7:1923–1931, 2001

30. Sakaguchi AA, Miura S, Takeuchi T, et al: Increased expression of inducible nitric oxide synthase and peroxynitrite in *Helicobacter pylori* gastric ulcer. Free Radic Biol Med, 27:781–789, 1999

31. Shapiro KB, Hotchkiss JH: Induction of nitric oxide synthesis in murine macrophages by *Helicobacter pylori*. Cancer Lett, 102:49–56, 1996

32. Tatsuguchi A, Matsui K, Shinji Y, et al: Cyclooxygenase-2 expression correlates with angiogenesis and apoptosis in gastric cancer tissue. Hum Pathol, 35:488–495, 2004

33. Takahshi S, Fujita T, Yamamoto A: Role of cyclooxygenase-2 in *Helicobacter pylori* -induced gastritis in Mongolian gerbils. Am J physiol, 279:G791–G798, 2001

34. Tatemichi M, Ogura T, Nagata H, Esumi H: Enhanced expression of inducible

- nitric oxide synthase in chronic gastritis with intestinal metaplasia. J Clin Gastroenterol*, 27:240-245, 1998
35. Warren JR, Marshall B: Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*, 1:1273-1275, 1983
36. Watanabe T, Tada N, Nagai H, Sasaki S, Nakao M: *Helicobacter pylori* infection induces gastric cancer in mongolian gerbils. *Gastroenterology*, 115: 642-648, 1998
37. Xie Q, Nathan C. The high-output nitric oxide pathway: role of nitric oxide in carcinogenesis. *Mutat Res*, 305:253-264, 1994
38. Wink DA, Kasprzak KS, Maragos CM, Elespuru RK, Misra M, Dunams TM, Cebula TA, Koch WH, Andrews AW, Allen JS: DNA deaminating ability and genotoxicity of nitric oxide and its progenitors. *Science*, 254:1001-1003, 1991
39. Witthoft T, Eckmann L, Kim JM, Kagnoff MF: Enteroinvasive bacteria directly activate expression of iNOS and NO production in human colon epithelial cells. *Am J Physiol*, 275:G564-G571, 1998
40. Wilson KT, Fu S, Rnmanujam KS, Meltzer SJ: Increased expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in Barrett's esophagus and associated adenocarcinomas. *Cancer Res*, 58:2929-2934, 1998
41. Warner TD, Mitchell JA: Cyclooxygenase new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *FASEB J*, 18:790-804, 2004

42. Wang WH, Huang JQ, Zheng GF, Lam SK, Karlberg J, Wong BC: Non-steroidal anti-inflammatory drug use and the risk of gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*, 3:1784-1791, 2003
43. Wilson KT, Ramanugam KS, Mobley HL, Musselman RF, James SP, Meltzer SJ: *Helicobacter pylori* stimulates inducible nitric oxide synthase expression and activity in a murine macrophage cell line. *Gastroenterology*, 111:1524-1533, 1996
44. Kim JM, Kim JS, Jung HC, Song IS, Kim CY: Cyclooxygenase-2 expression and apoptosis in *Helicobacter pylori*-infected human gastric epithelial cells. *The Korean journal of internal medicine*, 62:142-152, 2002

Abstract

Over expression of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in gastric diseases infected with *Helicobacter pylori*

Lee, Young Ki

Dept. of Biomedical Life Science

The Graduate School of Health and Environment

Yonsei University

*Gastric cancer is the most frequently diagnosed malignancy in Korea. Many studies have shown that *Helicobacter pylori*(*H. pylori*) infection is associated with gastric cancer. However, the mechanism of *H. pylori* in carcinogenesis has not been clarified.*

*Recent studies have shown that *H. pylori* infection leads to inducible cyclooxygenase-2(COX-2) and inducible nitric oxide synthase(iNOS).*

*In this study, we was studied relationship between the expression of COX-2 or iNOS and gastric cancer according to the clinical stage of gastric diseases. immunohistochemical stain was conducted with ninty-six patients who underwent gastric biopsies between in 2002 and in 2006 at Kangnung Asan Hospital. fifty-one of these patients were positive for *H. pylori* and fourty-five were negative for *H. pylori*.*

*The expression of cox-2 was significantly higher in *H. pylori*-positive groups than in *H. pylori*-negative groups($p<0.0001$). Especially, dysplasia and adenocarcinoma groups were significantly higher than previous stage among the *H. pylori*-positive patients. Although the difference was not statistically*

significant, expression of iNOS was shown to be increased in *H. pylori*-positive groups than in *H. pylori*-negative groups ($p=0.2073$). However, dysplasia and adenocarcinoma groups were significantly higher than previous clinical stage among the *H. pylori* positive groups and only adenocarcinoma in the *H. pylori* negative groups. Among 18 cases of COX-2 positive in *H. pylori*-positive groups, 17 cases were also shown to be positive in iNOS ($p<0.0001$).

These results suggest that higher production of COX-2 and iNOS in gastric mucosa infected with *H. pylori* may contribute to the carcinogenesis of gastric cancer.

.....

Key words: *H. pylori*, COX-2, iNOS, Immunohistochemical stain