

원발성 비소세포폐암조직에서 Cyclooxygenase-2 발현의 예후인자로서의 의의

원광대학교 의과대학 내과학교실

김학렬, 양세훈, 정은택

=Abstract=

Prognostic Significance of Cyclooxygenase-2(COX-2) Expression in Primary, Resected Non-Small Cell Lung Cancer

Hak Ryul Kim, M.D., Sei Hoon Yang, M.D., Eun Taik Jeong, M.D.

Department of Internal Medicine, Wonkwang University College of Medicine, Iksan, Korea

Background : Cyclooxygenase is the main target enzyme for the nonsteroidal anti inflammatory drugs (NSAIDs) that have been shown to suppress carcinogenesis in both experimental models and epidemiological studies. COX-2 plays an important role in solid tumor growth, invasiveness and angiogenesis, through, in part, the synthesis of prostaglandins, such as prostaglandin E2 (PGE2). In this study, the prognostic significance of an increase in COX-2 expression in lung cancer samples was evaluated.

Material and Methods : The expression of COX-2, by immunohistochemistry, was studied in paraffin-embedded tumor blocks obtained from 84 patients(male 67, female 17, with a mean age of 63, ranging from 34 to 84 years) who had undergone surgery at Wonkwang University Hospital, between 1997 and 2002. For the evaluation of the relationships between COX-2 expression, and the clinical stage, metastasis to lymph nodes and survival, those cases showing the respective antigen expression in >10% of the tumor cells were considered positive.

Result : Of the 84 patients, 61 (73%) exhibited more than 10% COX-2 immunoreactivities in the tumor and normal cells, whereas the remaining 23 showed no increase in the expression of COX-2. There was no significant relationship between the increased expression of COX-2 and the disease stage(p=0.1002)

* 본 연구는 2002년도 원광대학교 연구비 지원으로 이루어졌음

Address for correspondence :

Sei Hoon Yang, M.D.

Department of Internal Medicine, Wonkwang University College of Medicine

344-2, Shinyong-dong, Iksan, Jeonbuk, 570-711, Korea

Phone : 0653) 850-1078 Fax : 0653) 855-2025 E-mail : yshpul@wonkwang.ac.kr

or cell type($p=0.152$). The median survival was longer for the patients with a negative, compared to positive, COX-2 expression(36 compared to 24 months, $p<0.05$). The two year-survival rate was also higher in the patients with a negative COX-2 expression (78%) than those with a positive expression (47%, Kaplan-Meier, Log Rank, $p < 0.05$).

Conclusion : The median survival was longer in the patients with a negative, compared to positive, COX-2 expression was longer than those with positive COX-2, having undergone complete resection due to primary non-small cell lung cancer. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2004, 56:169-177)

Key word : Non-small cell lung cancer, COX-2, Survival

서 론

폐암에 대한 많은 연구가 이루어지고 금연 캠페인을 지속적으로 하여도 아직까지 5년 생존율은 비참하리만큼 낮다¹. 금연운동이 폐암예방에 가장 효과적인 방법이지만, 폐암 발생 위험은 성공적인 금연 후에도 몇 십년동안 높은 수준에 이른다². 이에 금연이외의 화학예방방법이 시도되었으나 두 가지 대규모 무작위 화학예방효과의 결과는 실망 적이다^{3,4}. 따라서 화학예방이 성공적으로 이루어지기 위해서는 높은 효능을 가진 새로운 약제의 개발이 요구되었다. COX는 최근에 많은 관심을 갖고 연구 중에 있고, 특히 아스피린의 장기 복용은 대장암의 위험을 40-50% 감소시킨다고 알려져 있다⁵⁻⁸. 비스테로이드성 항염증제(NSAID)는 동물실험에서 대장, 방광, 식도, 췌장, 자궁경부에서 종양의 형성을 억제하는 것으로 알려져있다⁹⁻¹¹.

COX에는 성상이 다른 COX-1과 COX-2의 2가지 아형이 있다. 이들 중에 COX-1은 외부자극과 관련이 없이 여러 장기에서 존재하며, 주로 위 점막 상피의 보호, 신장의 혈류유지, 혈소판 응집을 조절하는데 관여한다. 이에 반하여 COX-2는 정상 조직에서는 거의 발현되지 않다가 사이토카인, 내독소, 인터류킨 등의 외부자극에 의하여 발현된다. 특히 여러 암종에서 COX-2의 발현이 증가되어 있

고¹², metalloproteinase 등을 합성하는데 관여하여 암의 침윤이나 성장에도 영향을 미칠 뿐만 아니라⁵, 혈관 성장인자 형성과 미세혈관 형성에 직접 관여한다는 보고도 있다¹³. 또한 암종에서 COX-2의 증가는 자궁경부암에서 항암제 내성 및 예후 불량과 관련되어 있고¹⁴, 악성 중피종과 폐 선암에서의 COX-2 발현은 예후와 관련이 있다고 보고하고 있으나¹⁵⁻¹⁷, 일부에서는 COX-1과 COX-2발현은 기관지 화학예방 시도에 biomarker로서 의의가 없다고 보고하였다¹⁸.

이에 저자들은 본원에서 비소세포폐암으로 진단 받고 근치적 절제술을 시행 받은 환자의 조직에서 COX-2 발현을 검색하였으며, COX-2 발현정도와 임상병기, 병리조직학적 분류에 따른 생존기간과의 관계를 분석하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

1997년부터 2002년까지 본원에 내원하여 원발성 비소세포폐암으로 조직병리학적 진단을 받은 후 근치 목적의 절제술을 받았던 환자 84명을 대상으로 하였다. 평균 연령은 63세, 남녀 비는 67:17이었으며, 조직병리학적 분류는 편평상피암 53례, 선암 24례, 대세포암 7례였다. 병기는 TNM 방법(1997년

Table 1. Clinical characteristics of patients

Age (mean, range)	63 (34-84)
Sex (male : female)	67 : 17
Histology	
Squamous cell carcinoma	53
Adenocarcinoma	24
Large cell carcinoma	7
TNM stage	
I	37
II	29
III A	18

Table 2. Survival time of patients according to the hist-ology and TNM stage

	Median survival (months)
Histology*	
Squamous cell carcinoma	
Adenocarcinoma	
Large cell carcinoma	
TNM stage**	
I	
II	
III A	

Kaplan-Meier, Log-rank test
 *: $p > 0.05$, **: $p < 0.05$

개정)으로 I 병기 37례, II 병기 29례, IIIA 병기 18례였다(Table 1).

중간 생존기간은 편평상피암은 30개월, 선암은 33개월, 대세포폐암은 27개월이었으나 각 군 간의 유의한 생존율의 차이는 없었으며, TNM 병기에 따른 중간 생존기간은 I 병기가 36개월, II 병기가 30개월, IIIA 병기가 19개월로 각 군 간의 유의한 차이를 보였다(Table 2).

2. 방 법

수술한 환자의 모든 조직 슬라이드를 관찰하여 암종이 가장 깊숙이 침윤된 파라핀 포매된 조직을

택하여 4 μ m로 절편하여 5개의 슬라이드를 만들고 histoclear 용액으로 paraffin을 제거한 다음, 100%, 95%, 75%, 50% ethanol에 연속적으로 재수화시키고, 비특이적인 peroxidase 작용을 차단하기 위하여 3% H₂O₂로 처리한 후 증류수에 담근 다음 PBS(phosphate buffer saline)으로 세척하고, 비특이적 항체 결합을 막기 위하여 non-immune goat serum(5%, pH 7.6)으로 20분간 처리한 다음 COX-2 일차 항체[polyclonal rabbit antimouse antibody, 1:600 Cayman Chemical. Co, Ann Arbor, MI]를 40 $^{\circ}$ C에서 반응시켰다. 이후의 반응은 면역조직 화학염색법의 공통적인 것으로서, biotin이 결합된 2차 항체를 작용시키고, avidin이 결합된 peroxidase reagent를 반응시키면 biotin과 avidin이 결합되어 COX-2에 peroxidase가 부착된다. 여기에 3-amino-9-ethylcarbazole이 반응하여 갈색반응을 일으키게 한 후 Hematoxylin 염색으로 대조 염색시킨 후 COX-2의 발현을 확인하였다. COX-2의 발현은 2명의 숙련된 병리과 의사가 이중 맹검법(double blind method)으로 5개의 염색된 조직 슬라이드를 광학현미경 200배 하에서 여러 필드를 관찰하여 이중 가장 암세포가 많고 염색이

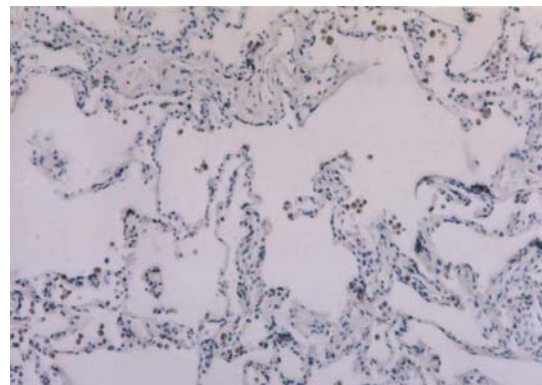


Fig. 1. The negative intensity of COX-2 immunostaining in the normal alveolar and bronchial epithelial cells(Hematoxylin counterstain, 200X)

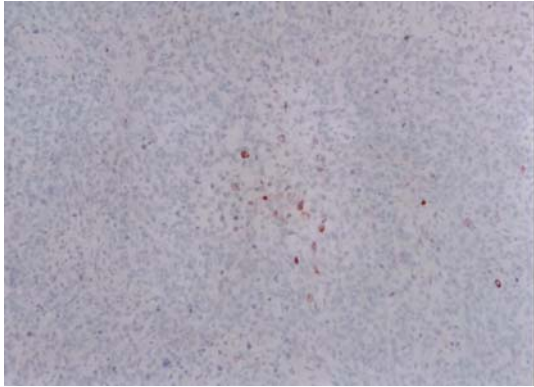


Fig. 2. The negative intensity of COX-2 immunostaining in the primary squamous cell carcinoma (Hematoxylin counterstain, 200X)

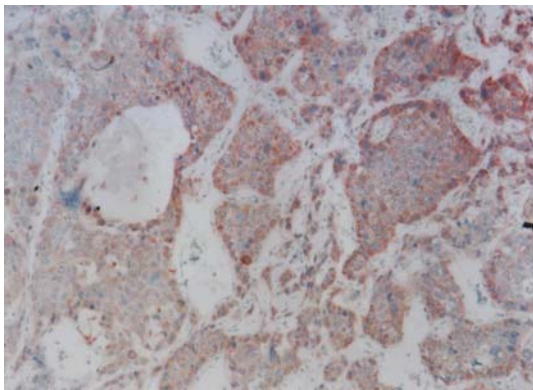


Fig. 3. The Strong intensity(diffuse brown) of COX-2 immunostaining in the primary squamous cell carcinoma(Hematoxylin counterstain, 200X)

잘된 부위를 찾아 전체 암세포 중 세포질에서 과립상으로 염색이 확인된 암세포의 비율이 10% 미만인 경우는 음성, 10% 이상인 경우는 양성으로 구분하였다(Fig. 1-3). COX-2 발현 정도에 따른 생존율과 폐암의 조직병리학적 분류, TNM 병기에 따른 생존율은 Kaplan-Meier법으로 구하였으며, 각 군간의 생존율은 Log-rank test로 비교하였고 p<0.05 일 때 통계학적 유의성을 인정하였다.

결 과

1. 비소세포 폐암조직에서 조직 병리학적 분류 및 TNM 병기에 따른 COX-2의 발현 정도

총 84례 중 COX-2는 양성군이 73%(61/84례), 음성군이 27%(23/84례)였다(Table 3). TNM 병기에 따른 COX-2 양성군이 I 병기 70%(26/37례), II 병기 69%(20/29), IIIA 병기 83%(15/18)였고, COX-2 음성군이 I 병기 30%(11/37례), II 병기 31%(9/29), IIIA 병기 17%(3/18)였다. TNM 병기 상승에 따른 COX-2 발현은 유의한 차이는 없었다(Table 4). 또한 조직 병리학적 분류에 있어 COX-2는 편평상피암에서 양성군이 72%(38/53례), 선암은 83%(20/24), 대세포암은 43%(3/7)였고, 편평상피암에서 음성군이 28%(15/53례), 선암은 17%(4/24), 대세포암은 57%(4/7)이었다. 조직 병리학적 분류에 따른 COX-2 발현의 유의한 차이도 없었다(Table 5).

2. 비소세포 폐암조직에서 COX-2항원의 발현 정도에 따른 생존율

COX-2의 발현 정도에 따른 중간 생존기간은 양

Table 3. Expression of COX-2 on non-small cell lung cancer

Negative (< 10%)	27% (23/84)
Positive (> 10%)	73% (61/84)

(): No of cases

Table 4. Expression of COX-2 according to TNM staging

		Negative	Positive
I	(37)	30%(11)	70%(26)
II	(29)	31%(9)	69%(20)
IIIA	(18)	17%(3)	83%(15)

(): No of cases

Table 5. Expression of COX-2 according to histological cell types

	Negative	Positive
Squamous(53)	28%(15)	72%(38)
Adeno (24)	17%(4)	83%(20)
Large (7)	57%(4)	43%(3)

Adeno: adenocarcinoma,
Large: large cell carcinoma
(): No of cases

Table 6. Survival time of the patients according to expression of COX-2

	Negative	Positive
Median (M)	36*	24
2-Yr survival rate	78%*	47%

Kaplan-Meier, Log-rank test * P < 0.05

성균이 24개월, 음성균이 36개월로 통계적으로 유의하게 음성균이 높았고, 2년 생존율도 양성균이 47%, 음성균이 78%로 통계적으로 유의하게 음성균이 높았다(Table 6).

조직 병리학적 분류에 따른 COX-2의 발현 정도에 따른 중간 생존 기간은 편평상피암에서 양성균이 24개월, 선암은 30개월, 대세포암은 16개월이었고, 편평상피암에서 음성균이 36개월, 선암은 40개월, 대세포암은 32개월로 음성균이 양성균에 비해 중간 생존기간이 길었으나 조직학적 분류에 따른 생존율의 차이는 없었다(Table 7).

고 찰

Prostaglandin은 arachidonic acid의 산화에 의해 만들어지는데 여러 기계적 혹은 화학적 자극에 의하여 유도되어 염증, 발열 그리고 통증을 일으키기도 하고, 자궁 근층의 주기적 수축, 배란에도 관여하고 뼈의 재형성, 신장의 치밀 반점 및 수질의 기질세포에서 COX-2가 발현되고 레닌 분비에 중요한 역할을 한다고 알려져있다. 또한 Prostaglandin은 위 점막에서 손상에 대해 위 점막 상피세포를

Table 7. Survival time according to expression of COX-2 and histological Cell Types

	Negative	Positive
Squamous	36*	24
Adeno	40	30
Large	32	16

Kaplan-Meier, Log-rank test

* Median(months) p>0.05

보호하는데 중요한 역할을 한다¹⁹. 이런 prostaglandin 합성은 세포내 산화효소로 알려진 COX에 의해 이루어진다. COX는 2개의 아형이 있는데 2.8kb mRNA에 의해 만들어지는 COX-1과 유사분열물질 유도형인 4.5kb mRNA에 의해 만들어지는 COX-2가 있다. COX-1은 세포내의 세포질세망에 구조적으로 존재하고 있으며 위 점막을 보호하거나 신장의 기능을 유지하는데 관여하고, COX-2는 세포질세망 이외에도 핵막에 있으며, 외부의 자극에 새로이 유도되어 합성되고 염증, 동통, 발열 등의 증세를 일으키고 유사분열, 세포접합, 면역체계의 감시와 세포사멸에도 영향을 주어 암의 발생기전에도 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 최근 여러 연구에 의하면 대장암²⁰, 유방암²¹, 식도암²², 폐암²³, 그리고 피부암²⁴ 등에서 prostaglandin 수치가 정상조직에 비하여 증가되어 있다.

본 연구에서는 원발성 폐암 조직에서의 COX-2의 발현과 생존율에 있어 차이를 알아보하고자 하였다. Jiro 등²⁵은 췌장의 정상조직에서 소도세포(islet cell)만 발현되고, 양성조직에서는 COX-2의 발현이 없으나, 췌장암 조직에서의 COX-2의 발현은 52명 중에 47례, 90%에서 발현이 증가되어 있어 COX-2 억제제가 췌장암에 효과가 있을 것이라고 보고하였으며, Awad 등²⁶은 식도에서 편평상피세포의 고 이형성이 정상 편평상피세포, 저 이형성, 상피내 암종보다 COX-2의 발현이 증가되어 있으나, COX-2 발현과 예후를 포함한 임상적 병리학적 지표와 관련성이 없고, 식도암 발암의 초기단계라고 보고하였다. 또한 채 등²⁷은 위암 조직에서

COX-2의 발현이 80.9%로서 위 선종(15%)보다 증가되었고, 정상 점막에서는 발현이 없었으며 COX-2의 발현과 암의 침윤, 전이와는 상관관계가 없었다고 보고하고 있다.

Ferrandina 등¹⁴은 자궁경부암 조직에서 COX-2의 발현은 42.9%였고, 발현의 증가는 항암제 내성과 관련이 있고, 2년 생존율은 양성군이 38%이고, 음성군이 85%로서 불량한 예후를 보인다고 하였고, Ari 등²⁸도 유방암 조직에서 37.4%의 COX-2 발현 양성을 보였으며, COX-2 발현 시 예후가 불량하다고 보고하였다.

Hiroyuki 등¹⁶은 원발성 폐 선암에서 COX-2의 발현은 130명중에 93명 72%였고, Fadlo 등¹⁷은 I기 비소세포폐암조직에서 COX-2의 양성은 160명중에 96례, 60%였으며, 조직학적으로 선암이 62명중 37례, 59.7%였고, 편평상피암은 70명중 45례, 64.2%이었다. Hida 등²⁹은 COX-2의 발현이 편평상피암에서는 14%이고, 선암에서 70%로 더 많았고, COX-1은 편평상피암에서 더 많았다고 보고 있다. 역으로 Wolff 등²³은 모든 편평상피암에서 COX-2가 발현되었고, 선암에서는 90%가 발현되었다고 보고하였다.

Lee 등¹⁸은 정상 기관지 상피세포에서는 COX-1이 약간 발현되었고, COX-2는 발현되지 않았고, 편평상피 화생(metaplasia)에서도 COX-2가 발현되지 않았고, 비소세포폐암조직 101례 중에 30례, 30%가 COX-2 양성이었고 선암이 41%, 편평상피암이 20%로 선암에서 COX-2 발현이 증가하였다. Leander 등³⁰도 원발성 폐 선암에서 편평상피암보다 COX-2 발현이 증가 되었다고 보고하였다. 본 연구에서는 총 84례중 61례, 73%에서 COX-2 발현이 양성으로 Hiroyuki 결과와 유사하였고, 조직 병리학적 분류에 있어 COX-2는 편평상피암에서 양성군이 72%(38/53례), 선암은 83%(20/24), 대세포암은 43%(3/7)으로 다른 보고들과 유사하게 선암에서 발현율이 높았으나 통계적으로 유의한 차

이는 없었다.

Hiroyuki 등¹⁶은 초기 I 병기에서만 COX-2 발현 양성군이 음성군보다 생존율이 불량하였고 그 외 다른 임상적 병리적 지표는 유의한 차이가 없었다고 보고하였고, Fadlo 등¹⁷은 COX-2의 양성군이 음성군에 비해 중간 생존기간이 짧았고, 무병 생존기간도 불량하였다고 보고하였다.

또한 Hida 등²⁹은 전이된 림프 절에서 COX-2 발현이 증가되어 있어 폐 선암에서 COX-2는 전이와 침윤에 관계할 것이라고 보고하였고, Lee 등¹⁸은 COX-1과 COX-2의 발현은 종양의 크기, 병기, 림프절 전이와는 상관관계를 찾을 수 없었다고 보고하였다. 하지만 본 연구는 TNM 병기 및 조직학적 병리조건에 따른 COX-2의 발현은 유의한 차이를 보이지 않았지만, COX-2의 발현 정도에 따른 중간 생존기간은 양성군이 24개월, 음성군이 36개월로 통계적으로 유의하게 음성군이 높았고, 2년 생존율도 양성군이 47%, 음성군이 78%로 통계적으로 유의하게 음성군이 높았다.

결론적으로 본 연구에서는 COX-2의 발현이 비소세포폐암에서 증가되어 있고, 특히 선암에서 증가를 보였으며, COX-2가 예후와 관계 될 것으로 사료된다. 앞으로 COX-2가 왜 암 조직에서 발현되고, COX-2의 증가로 생긴 prostaglandin이 암세포 내에서 어떤 역할을 하는지 최근의 DNA microarray나 functional proteomics 등의 방법을 통하여 밝혀야 향후 화학예방을 위한 새로운 억제개발이 이루어지리라 생각된다.

요 약

연구배경 :

Cyclooxygenase는 비스테로이드성 항염증제의 주요 작용부위로 실험적 모델이나 역학적 연구에서 암 발생을 억제하는 것으로 알려져 있다. COX-2는 prostaglandin E2와 같은 prostaglandin 합성을

통해 종양의 성장, 침윤 그리고 신생혈관에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 절제된 비소세포폐암조직에서 COX-2의 발현과 COX-2의 예후인자로서의 의의를 조사해 보았다.

대상 및 방법 :

1997년부터 2002년까지 본원에 내원하여 원발성 비소세포폐암으로 진단 받은 후 근치 목적의 절제술을 받았던 환자 84명을 대상으로 파라핀 포매된 조직을 택하여 면역 화학염색 방법을 통하여 COX-2의 발현을 관찰하였다. COX-2가 발현된 암세포의 비율이 10% 이상인 경우를 양성으로 하였다.

결 과 :

평균 연령은 63세, 남녀 비는 67:17이었으며, 조직 병리학적 분류는 편평상피암 53례, 선암 24례, 대세포암 7례였다. 병기는 I 병기 37례, II 병기 29례, IIIA 병기 18례였다. 총 84례 중 COX-2는 양성군이 73%(61/84례), 음성군이 27%(23/84례)이었다. COX-2 발현과 TNM 병기, 조직학적 분류와는 유의한 상관관계가 없었으나, 중간 생존기간은 COX-2 양성군이 음성군보다 통계적으로 유의하게 짧았다.

결 론 :

비소세포폐암에서 COX-2 항원 발현 음성군이 중간 생존기간이 길었다.

참 고 문 헌

1. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1998. CA J Clin 1998;48:6-29.
2. Garfinkel L, Stellman SD. Smoking and lung cancer in women: findings in a prospective study. Cancer Res 1998;48:6951-5.
3. The Alpha-Tocopherol, B. C. C. P. S. G. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. N Engl J Med 1994;330:1029-35.
4. Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, et al. Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease (see comments). N Engl J Med 1996;334:1150-5.
5. Tsuji M, Dubois R. Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase-2. Cell 1995;83:493-501.
6. Giardiello FM, Offerhans GJA, DuBois RN. The role of non steroidal antiinflammatory drugs in colorectal cancer prevention. Eur J Cancer 1995;31A:1071-6.
7. Giovannucci E, Egan KM, Hunter DJ, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC, et al. Aspirin and the risk of colorectal cancer in women. N Engl J Med 1995;333:609-4.
8. Dubois RN, Smalley WE. Cyclooxygenase, NSAIDs and colorectal cancer. J Gastroenterol 1996;31:898-906.
9. Steele VE, Moon RC, Lubert RA, Grubbs CJ, Reddy BS, Wargovich M, et al. Preclinical efficacy evaluation of potential chemopreventive agent in animal carcinogenesis models: methods and results from the NCI Chemoprevention Drug Development Program. J Cell Biochem Suppl 1994;20:32-54.
10. Lupulesco A. Prostaglandins, their inhibitors and cancer. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 1996;54:83-94.
11. Castonguay A, Rioux N. Inhibition of lung tumorigenesis by sulindac: comparison of two experimental protocols. Carcinogenesis 1997;18:491-6.

12. Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A, Giardiello FM, Ferrenbach S, DuBois RN. Up-regulation of cyclooxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology* 1994;107:1183-1188.
13. Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, Sawaoka H, Hori M, Dubois RN. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 1998;93:705-16.
14. Ferrandina L, Lauriola MG, Distefano GF, Zannoni M, Gessi F, Legge N, et al. Increased cyclooxygenase-2 expression is associated with chemotherapy resistance and poor survival in cervical cancer patients. *J Clin Oncol* 2002;20:973-81.
15. John GE, Stephen PF, Simon MP, Keith RA, Rosemary AW, David AW, et al. Cyclooxygenase-2 expression is a novel prognostic factor in malignant mesothelioma. *Clin Cancer Res* 2002;8:1857-62.
16. Hiroyuki A, Yatabe Y, Hinda T, Kuroishi T, Kozaki K, Nakamura S, et al. prognostic significance of elevated cyclooxygenase 2 expression in primary, resected lung adenocarcinomas. *Clin Cancer Res* 1999;5:1001-5
17. Fadlo RK, Wu H, Lee jj, Kemp BL, Lotan R, Lippman SM, et al. cyclooxygenase-2 overexpression is a marker of poor prognosis in stage I non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2001;7:861-67.
18. Hastürk S, Kemp B, Kalapurakal SK, Kurie JM, Hong WK, Lee JS. Expression of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in bronchial epithelium and non small cell lung carcinoma. *cancer* 2002;15:94(4):1023-31.
19. Terano A, Ota S, Mach T, Hiraishi H, Stachura J, Tarnawski A, ET AL. Prostaglandin protects against taurocholate-induced damage to rat gastric mucosal cell culture. *Gastroenterology* 1987;92:669-77.
20. Hao X, Bishop AE, Wallace M, Wang H, Willcocks TC, Maclouf J, et al. Early expression of cyclooxygenase-2 during sporadic colorectal carcinogenesis. *J Pathol* 1999;187:295-301.
21. Liu XH, Rose DP. Differential expression and regulation of cyclooxygenase-1 and -2 in two human breast cancer cell lines. *Cancer Res* 1996;56:5125-7.
22. Zimmermann KC, Sarbia M, Weber AA, Borchard F, Gabbert HE, Schror K. Cyclooxygenase-2 expression in human esophageal carcinoma. *Cancer Res* 1999;59:198-204.
23. Wolff H, Saukkonen K, Anttila S, Karjalainen A, Vainio H, Ristimaki A. Expression of cyclooxygenase-2 in human lung carcinoma. *Cancer Res* 1998;58:4997-5001.
24. Buckman SY, Gresham A, Hale P, Hruza G, Anast J, Masferrer J, et al. COX-2 expression is induced by UVB exposure in human skin: implications for the development of skin cancer. *Carcinogenesis* 1998;19:723-9.
25. Jiro O, Hirofumi Y, Yoshiyuki F, Tsujie M, Kondo M, Noura S, et al. Overexpression of cyclooxygenase-2 in carcinoma of the pancreas. *Clin Cancer Res* 1999;5:2018-24.
26. Awad S, Yamamoto H, Doki Y, Jiro O, Kondo M, Fujiwara Y, et al. Up-regulation of cyclooxygenase-2 in squamous carcinogenesis of the esophagus. *Clin Cancer Res* 2000;6:1229-38.

27. Chae SW, Sohn JH, Shin HS, Park YE. Expression of cyclooxygenase-2 protein in gastric carcinogenesis. *Cancer Res and Treat* 2002;34:252-7.
 28. Ari R, 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;62:1:632-5.
 29. Hida T, Yatabe Y, Achiwa H, Muramatsu H, Kozaki K, NaKamura S, et al. Increased expression of cyclooxygenase-2 occurs frequently in human lung cancers, specifically in adenocarcinomas. *Cancer Res* 1998;58:3761-4.
 30. Leander E, Christian D, Monika E. Immunohistochemical expression of cyclooxygenase isoenzymes and downstream enzymes in human lung tumors. *Clin Cancer Res* 2003;9:1604-10.
-