

타액선 종양에서 COX-2의 발현에 관한 연구

한양대학교 의과대학 이비인후과학교실,¹ 병리학교실²
 금효섭¹ · 이용섭¹ · 김경래¹ · 박철원¹ · 태 경¹ · 백승삼²

Expression of COX-2 in Salivary Gland Tumor

Hyo Sub Keum, MD¹, Yong Seop Lee, MD¹, Kyung Rae Kim, MD¹,
 Chul Won Park, MD¹, Kyung Tae, MD¹ and Seung Sam Paik, MD²

¹Department of Otolaryngology and ²Pathology, College of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea

-ABSTRACT-

Objectives : Cyclooxygenase (COX) is the rate limiting enzyme in the conversion of arachidonic acid to prostaglandins. To date, two isoforms of COX, COX-1 and COX-2, have been identified. Especially, elevated COX-2 expression has been shown to occur in several malignancies. In the head and neck, COX-2 has been reported to be up-regulated in squamous cell carcinomas. The aim of this study is to evaluate the significance of expression of COX-2 in benign and malignant salivary gland tumors. **Materials and Methods** : Immunohistochemical analysis was used to detect expression of COX-2 in paraffin-embedded samples from 63 benign and 51 malignant salivary gland tumors. Results were analyzed between benign and malignant tumors and compared with the clinical parameters such as stage and recurrence in malignant tumors. **Results** : COX-2 overexpression was detected in 23.8% of the benign salivary gland tumors and 33.3% of the malignant salivary gland tumors. But there was no statistical significance. According to histologic classification in benign Salivary gland tumor, COX-2 overexpression of COX-2 was detected in 32.5% of pleomorphic adenoma and in 10.5% of warthin's tumor. In malignant salivary gland tumor, COX-2 overexpression was detected in 33.3% of mucoepidermoid carcinoma. And in 26.6% of adenoid cystic carcinoma. But there were no statistical significance. 31% of male were positive for COX-2 and 25% of female were positive for COX-2. Male showed slightly higher expression rate, but there was no statistical significance. **Conclusions** : COX-2 overexpression is not associated with the progression of malignant salivary gland tumors. But there are many reports that COX-2 is associated with carcinogenesis in other malignant tumors. So further studies with large number of patient will be needed. (J Clinical Otolaryngol 2006;17:66-72)

KEY WORDS : Salivary gland tumor · Cyclooxygenase-2.

서론

종양은 복잡한 유전자의 변화에 의해 발생하는 것은 이미 잘 알려진 사실이며, 여러 가지 유전자들 중 종양

의 발생과 관련하여 관심을 끌고 있는 것은 기능이 증대되면 암을 발생시키는 종양발생유전자와, 기능이 없어지면 암을 발생시키는 종양억제유전자, 세포고사에 관여하여 세포의 수명을 조절하는 유전자들로, 이들의 변화가 종양 발생에 중요한 기전으로 인식되고 있다.

논문접수일 : 2006년 3월 3일

심사완료일 : 2006년 5월 23일

교신저자 : 태 경, 471-701 경기도 구리시 교문동 249-1 한양대학교 의과대학 이비인후과학교실

전화 : (031) 560-2363 · 전송 : (031) 566-4884 E-mail : kytae@hanyang.ac.kr

Arachidonic acid 대사에서 cyclooxygenase 경로의 최종산물로 생성되는 prostaglandin, 특히 prostaglandin E 계열의 경우 과발현시 여러 인간 종양에서 세포 증식과 신생혈관생성을 촉진시키고, 악성세포에 대한 면역반응과 세포고사를 억제하며, 종양의 침윤과 전이에 관여한다고 알려져 있다.¹⁾ 따라서 prostaglandin 생성에 관여하는 cyclooxygenase(COX)에 대해 많은 연구가 보고되고 있다. Arachidonic acid 대사는 세포막 phospholipid의 phospholipase A₂에서 유리된 arachidonic acid에서 lipooxygenase 경로와 COX 경로로 나뉘는데 COX 경로를 통해 thromboxane A₂, prostacyclin, prostaglandin 등이 최종 생성된다.

COX는 arachidonic acid로부터 중간산물인 prostaglandin G₂를 합성하는데 속도제한효소로 작용하며, COX-1, COX-2의 두 가지 아형이 존재한다. COX-1은 대부분의 조직에서 발현되고, 세포의 항상성을 유지하는 생리학적 기능, 예를 들면 위에서의 위벽보호, 신장에서 혈관 확장에 작용하는 등의 역할을 한다. 반면 COX-2는 정상 조직에서는 거의 확인되지 않다가 성장인자, 발암유전자, 발암물질 등의 외부자극에 의해 조기에 합성되어 염증과, 종양세포에서 발현되고, 이는 세포고사를 억제하며 종양의 전이, VEGF(vascular endothelial growth factor)의 발현을 증가시켜 종양의 신생혈관생성을 증가시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있다.²⁾ 최근까지 발표된 연구에 의하면 COX-2는 위장관계,³⁾ 유방,⁴⁾ 폐,⁵⁾ 췌장,⁶⁾ 간,⁷⁾ 방광,⁸⁾ 전립선,⁹⁾ 피부¹⁰⁾ 등에 발생한 악성종양에서 과발현이 있어 COX-2가 종양의 악성화와 관계가 있을 것으로 생각된다.

이에 본 연구에서는 타액선의 양성 및 악성 종양에서 면역조직화학적 방법으로 COX-2의 발현정도를 측정하여 타액선 양성 및 악성 종양의 발생과 관련이 있는지 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1990년 3월부터 2004년 6월까지 한양대학교 이비인후과에서 타액선 종양으로 수술을 받은 환자 중 조직의 파라핀 보관이 양호하였던 114례를 연구대상으로 하였다. 114례 중 남자는 54례 여자는 60례였고, 평균

나이는 47.9세였다. 총 114례 중 양성 종양이 63례, 악성 종양이 51례였다. 양성종양 63례 중 다형선종(pleomorphic adenoma)이 40례, 와르틴 종양(Warthin's tumor)이 19례, 기저세포암종(basal cell adenoma)이 4례였다. 악성종양 51례 중에서는 점액표피양암종(mucoepidermoid carcinoma)이 14례, 선양낭성암종(adenoid cystic carcinoma)이 15례, 선암종(adenocarcinoma)이 8례, 다형선종유래암종(carcinoma ex pleomorphic adenoma)이 6례, 기타 8례(편평세포암종, 선방세포암종, 타액선관암종)였다.

연구 방법

면역조직화학적 염색

COX-2의 발현정도를 평가하기 위해 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 타액선 종양 수술시 절제한 타액선 종괴를 10% 중성 포르말린에 고정한 후 파라핀에 고정하고 조직표본을 4 μm 두께의 절편으로 박절하여 L-lysine coated slide에 고정하여 사용하였다. 슬라이드를 65°C 보온기에서 밤새 incubation하였다. 100% xylene에서 10분간 2회 탈 파라핀 과정을 거쳤으며 100%, 90%, 70%, 30% ethyl alcohol에 각 10분, 5분, 5분, 5분씩 처리하여 함수화를 유도하였다. 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위하여 메탄올과 과산화수소수를 1 : 4로 혼합된 용액에 15분간 반응시킨 후 phosphate-buffered saline(이하 PBS, pH 7.4)에 3회 세척하였다. 슬라이드는 항원 회복(antigen retrieval)을 위하여 pH 6.0 citric acid 용액에 담가서 autoclave에서 15분 동안 121°C로 가열하고 30분간 흐르는 차가운 물에서 식힌 후 PBS에 3회 세척하였다. 그 후 COX-2 단클론항체(BD, Biosciences, CA, USA. Cat. 610204)를 4°C에서 밤새 반응시킨 후 PBS에 세척하고, 다시 HRP(DAKO Envision Detection Kit. Cat. K5007)를 도포하여 실온에서 40분을 반응시키고 난 후 3, 3'-diaminobenzidine(DAB)으로 발색시킨 후에 헤마톡실린으로 대조염색을 시행하고 고정한 후 봉입하였다.

면역 조직화학적 염색의 결과 판정

동일한 부위의 다른 슬라이드를 헤마톡실린-에오신

으로 염색하고 종양이 있는 부분을 슬라이드에 표시한 후 COX-2 항체를 이용하여 면역조직화학법으로 염색한 슬라이드를 겹쳐서 종양이 있는 동일한 부분을 표시하고 이 부분에서 결과를 분석하였다. 결과는 광학현미경 100배와 400배 시야에서 판독하였으며 전체 종양세포 중 세포질과 세포핵이 갈색으로 염색된 양성 세포수의 백분율을 구하였다. 염색된 세포가 10% 미만인 경우를 음성, 10%이상 40%미만을 1+, 41%이상 70%미만을 2+, 70%이상을 3+로 판정하였다.

통계처리

COX-2의 양성발현율과 여러 가지 변수들과의 상관성은 Pearson Chi-Square test 및 Fisher's Exact test를 이용하여 분석하였으며, 통계학적 유의수준은 $p < 0.05$ 으로 정하였다.

결 과

양성과 악성 종양에서 COX-2의 발현 양상

본 연구에서 COX-2는 종양세포의 세포질에 주로 흑갈색으로 발현되거나 핵 주변부에서 흑갈색으로 발현되는 양상을 보였다. COX-2는 63례의 양성종양 중 15례(23.8%)에서 발현되고, 악성종양 중에서는 총 51례

중 17례(33.3%)에서 양성발현을 보여, 양성종양보다 악성종양에서 발현율이 높았으나 통계학적 유의성은 없었다(Table 1). COX-2 발현의 정도는 양성종양에서 1+ 10례(15.9%), 2+ 4례(6.3%), 3+ 1례(1.6%)이었으며, 악성종양에서는 1+ 12례(23.5%), 2+ 4례(7.8%), 3+ 1례(2.0%)이었으며, 두 군 사이의 통계학적인 연관성은 없었다($p=0.298$) (Table 2).

조직학적 분류에 따른 COX-2의 발현 양상

양성 종양의 조직학적 분류에 따른 COX-2의 발현양상은 다형선종의 경우 40례중 13례(32.5%)에서 양성 발현을 보였고 발현정도는 1+ 8례, 2+ 4례, 3+ 1례로 나타났으며, 와르틴 종양의 경우 19례중 2례에서 1+의 발현을 보였다. 다형선종이 와르틴 종양보다 발현율이 높았으나 통계적으로는 유의하지 않았다($p=0.070$) (Fig. 1). 기저세포샘종은 4례 모두에서 발현되지 않았다.

악성종양의 조직학적 분류에 따른 COX-2의 발현양상은 점액표피양암종의 경우 14례중 5례(35.8%)에서 양성발현을 보였고, 발현정도는 1+ 5례였고, 선양낭성암종은 15례중 4례(26.6%)에서 양성발현을 보였고, 발현정도는 1+ 1례, 3+ 3례였다. 점액표피양암종이 선양낭성암종보다 발현율이 높았으나 통계적으로는 유의하지 않았다($p=0.700$) (Fig. 2). 다형선종유래암종과, 선방세포암종은 각각 6례와 4례에서 50%의 양성발현을 보였으며, 편평세포암종은 3례 모두에서 음성이었다 (Table 3).

다형선종과 다형선종 유래암종에서 COX-2의 양성발현의 비교

다형선종과 다형선종 유래암종에서 COX-2의 발현을 비교해 보았을 때 다형선종이 40례중 13례(32.5%)에

Table 1. Expression of COX-2 in benign and malignant tumor

	COX-2		Total
	+	-	
Benign (%)	15 (23.8%)	48 (76.2%)	63
Malignancy (%)	17 (33.3%)	34 (66.7%)	51
Total	16	42	58

p-value=0.298

Table 2. COX-2 immunoreactivity in 63 benign and 51 malignant salivary gland tumors

Tumor type	COX-2 immunoreactivity				Positive percent
	-	1+	2+	3+	
Benign tumors	48	10 (15.9%)	4 (6.3%)	1 (1.6%)	15 (23.8%)
Malignant tumors	34	12 (23.5%)	4 (7.8%)	1 (2.0%)	17 (33.3%)
Total	82	22	8	4	32 (27.6%)

p-value=0.298

Fig. 1. COX-2 staining in benign salivary gland tumors. Strong positive (+++) staining case of pleomorphic adenoma (A) and weak positive (+) staining case of Warthin's tumor (B) in benign salivary gland tumors. Dark-brown color staining is identified in perinuclear region and cytoplasm of tumor cells ($\times 400$).

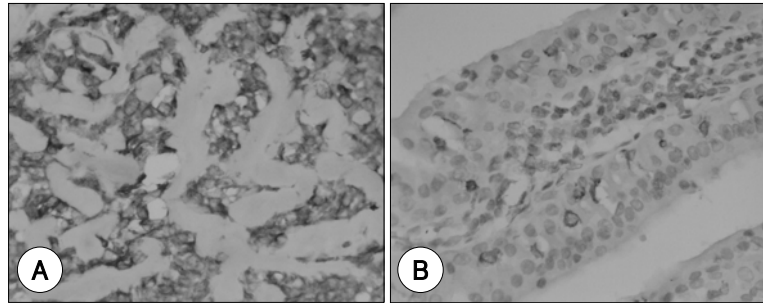


Fig. 2. COX-2 staining in malignant salivary gland tumors. Strong positive (++) staining case of mucoepidermoid carcinoma (A) and another strong positive (+++) staining case of adenoid cystic carcinoma (B). Staining of dark-brown color is identified in perinuclear region and cytoplasm of tumor cells (B) ($\times 400$).

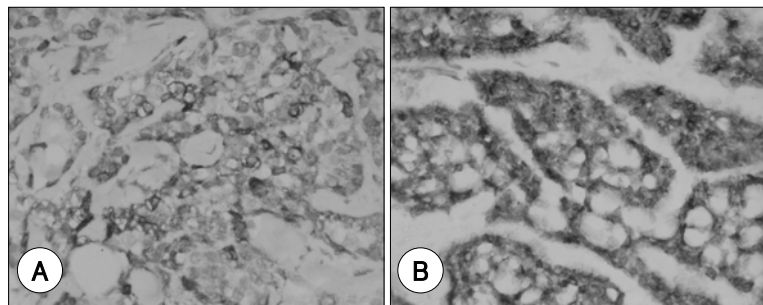


Table 3. COX-2 immunoreactivity in 63 benign and 51 malignant salivary gland tumors according to the histological classification

Tumor type	No. of cases	COX-2 immunoreactivity				Positive percent
		-	1+	2+	3+	
<i>Benign tumors</i>						
Pleomorphic adenoma	40	27	8	4	1	32.5%
Warthin's tumor	19	17	2	0	0	10.5%
Basal cell adenoma	4	4	0	0	0	0%
<i>Malignant tumors</i>						
Mucoepidermoid ca	14	9	5	0	0	35.8%
Adenoid cystic ca	15	11	1	3	0	26.6%
Adenocarcinoma	8	6	2	0	0	25%
Ca ex PA	6	3	2	1	0	50%
Acinic cell ca	4	2	2	0	0	50%
Squamous cell ca	3	3	0	0	0	0%
Salivary duct ca	1	0	0	0	1	100%

ca : carcinoma, Ca ex PA : Carcinoma ex pleomorphic adenoma

서 COX-2 단백질이 양성발현된 반면 다형선종 유래암종에서는 6례중 3례(50%)에서 양성발현되어 다형선종유래암종에서 발현율이 높았으나 통계적으로 유의한 상관

Table 4. Expression of COX-2 in pleomorphic adenoma and carcinoma ex pleomorphic adenoma

	COX-2		Total
	+	-	
Pleomorphic adenoma	13 (32.5%)	27 (67.5%)	40
Carcinoma ex pleomorphic adenoma	3 (50%)	3 (50%)	6

p-value=0.401

관계는 없었다(p=0.401) (Table 4).

성별에 따른 COX-2의 양성발현의 비교

남자는 54례중 17례(31%)에서 양성, 여자는 60례중 15례(25%)에서 양성발현을 보였고, 남녀간에 통계적으로 유의한 상관관계는 없었다(p=0.532) (Table 5). 양성종양에서 남자는 31례중 9례(29%)에서 양성발현을 보였으며 여자는 32례중 6례(19%)에서 양성발현을 보였고, 악성종양에서 남자는 23례중 8례(35%)에서 양성발현을 보였고(p=0.387), 여자는 28례중 9례(39%)에서 양성발현을 보였다(p=0.842). 양성종양과 악성종양에서 각각 발현율은 남녀간 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

연령에 따른 COX-2의 양성발현의 비교

총 114명중 50세 미만은 53례, 50세 이상은 61례였다. 50세 미만에서는 53례중 18례(34.0%)에서 양성, 50세 이상에서는 61례중 14례(23.0%)에서 양성발현을 보였고, 두 군간 통계적으로 유의한 상관관계는 없었다(p=0.215) (Table 6).

양성종양에서 50세 미만은 34례중 12례(35.3%)에서 양성발현을 보였으며 50세 이상에서는 29례중 3례(10.3%)에서 양성발현을 보여 통계적으로 유의한 차이를 보였고(p=0.036), 악성종양에서 50세 미만은 19례

중 6례(31.6%)에서 양성발현을 보였으며 50세 이상에서는 32례중 11례(34.4%)에서 양성발현을 보여 두 군간 통계적으로 유의한 차이는 없었다(p=0.838).

악성종양의 임상적 병기와 COX-2 발현과의 상관관계

악성종양의 임상적 병기는 제1기 7례, 제2기 20례, 제3기 10례, 제4기 14례였다. 조기 병기인 제1, 2기와 진행된 병기의 제3, 4기의 2군으로 나누어 비교하였다. COX-2의 양성 발현율은 조기 병기에서 29.6%, 진행된 병기에서 37.5%로 진행된 병기에서 양성발현이 높았으나 통계학적인 의의는 없었다(p=0.552) (Table 7). T 병기만 고려하였을 때 조기 병기와 진행된 병기에서 COX-2 양성 발현율은 조기 병기에서 29.0%, 진행된 병기에서 40.0%로 진행된 병기에서 양성발현이 높았으나 통계학적인 의의는 없었다(p=0.417) (Table 7).

Table 5. Expression of COX-2 in male and female

	COX-2		Total
	+	-	
Male	17 (31.4%)	37 (68.6%)	54
Female	15 (25%)	45 (75%)	60
Total	32	82	114

p-value=0.532

Table 6. Expression of COX-2 according to age

	COX-2		Total
	+	-	
Age 50 <	18 (34.0%)	35 (66.0%)	53
Age 50 ≥	14 (23.0%)	47 (77%)	61
Total	32	82	114

p-value=0.215

Table 7. Expression of COX-2 according to clinical features in malignant salivary gland tumors

	COX-2		Total
	+	-	
T stage			
T1-2	9 (29.0%)	22 (71.0%)	31
T3-4	8 (40.0%)	12 (60.0%)	20
	p-value=0.417		
Stage			
I-II	8 (29.6%)	19 (70.4%)	27
III-IV	9 (37.5%)	15 (62.5%)	24
	p-value=0.552		
Recurrence			
No recurrence	10 (28.6%)	25 (71.4%)	35
Recurrence	7 (43.8%)	9 (56.3%)	16
	p-value=0.286		

악성종양의 재발과 COX-2 발현과의 상관관계

악성종양 51례 중 16례에서 재발하였다. 악성종양의 재발여부와 COX-2 발현율과는 연관성이 없었다(p=0.286) (Table 7).

고 찰

종양에서 COX-2의 발현에 대한 연구는 여러 종류의 암 특히 대장암에서 많이 이루어졌고, 피부암, 간암, 유방암 그리고 방광암 등에서도 연구되고 있다. 두경부 영역에서는 1999년 Chan 등¹¹⁾의 연구에서 두경부 편평세포암종에서 COX-2의 발현이 증가되었다고 발표한 이래 COX-2의 발현에 대한 연구들이 이뤄지고 있다.

Sakurai 등¹²⁾은 인간 타액선 종양에서 COX-2의 발현에 대해 연구하였는데 양성종양에서는 90%의 양성발현을 보였고, 악성종양에서는 100%의 양성발현을 보았다. 양성종양의 조직학적 분류에 따라 발현을 비교해 보았을 때 다형선종은 산발적으로 종양세포 전체에서 COX-2의 발현이 있었고, 와르턴 종양은 모든 레에서 종양의 상피세포에서 발현율이 매우 높게 나타났다. 악성종양에서는 거의 모든 종양세포에서 발현율이 매우 높게 나타났다. Loy 등¹³⁾의 연구에서는 COX-2는 21례의 와르턴 종양의 상피세포조직에서는 모두 양성발현을 나타내

었고, 종양의 림프계조직에서는 발현되지 않았다. 본 연구에서는 이와 달리 와르틴 종양에서의 발현율은 19례 중 2례에서만 양성발현되었고, 악성종양에서는 51례 중 17례(33.3%)에서만 양성발현되어 이전의 연구보다 양성 발현율이 낮게 나타났다. 본 연구에서 다른 연구와 다른 결과를 보인 이유로는 사용한 항 COX-2 항체가 다르며 실험 조건이 다르기 때문인 것도 고려해야 할 것으로 생각된다.

COX-2는 대부분의 정상 세포에서는 발현되지 않지만 사이토카인, 내독소, interleukins, phorbol ester 등을 포함한 세포분열촉진인자와 염증 전구체들에 의해 조기에 유도된다.¹⁴⁾¹⁵⁾ 본 연구에서는 정상 타액선 세포에서는 COX-2가 발현되지 않았으나 Loy 등¹³⁾의 연구에서는 정상 이하선 조직의 침샘관세포에서 발현되었다. Sakurai 등¹²⁾은 인간 타액선 종양에서 COX-2는 소엽속관의 상피세포에서 선택적으로 발현되고 장액성, 점액성의 선방세포에는 발현되지 않았다고 보고하였다. 인간의 기도상피세포¹⁶⁾와 식도¹⁷⁾ 위¹⁸⁾의 정상조직에서도 발현되었다는 보고도 있다. 이는 기전은 명확하지 않으나 COX-2가 정상세포에서도 존재할 수 있고, 생리학적인 기능을 갖고 있음을 예측할 수 있으며, 앞으로 이에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다.

종양의 발생에서 COX-2의 과발현이 관련될 것으로 생각되나, COX-2의 과발현의 기전에 대해서는 정립된 바가 없다. Soo 등¹⁹⁾은 nasopharyngeal carcinoma 조직에서 COX-2 발현에 관한 연구에서 COX-2 promoter region의 methylation이 COX-2의 과발현과 연관이 있을 것이라는 보고를 하였으나 아직까지 기전이 명확하지 않으며 이에 대한 추가 연구가 필요하다.

COX-2의 과발현으로 인한 prostaglandin의 과생성은 세포증식과 혈관생성을 촉진하고 면역체계를 억제하여 암세포의 성장을 촉진시킨다. 또한 COX-2의 과발현은 세포고사를 억제하고 침습성을 강화시키는데, 특히 세포고사를 억제하는 것이 종양세포에서 COX-2가 미치는 요인 중 가장 중요한 역할로 생각된다.¹⁾ 따라서 COX-2를 선택적으로 억제함으로써 암의 예방과 치료효과를 기대할 수 있고 이에 대한 연구들이 보고되고 있다.

COX 억제제는 항염, 진통 해열 등의 목적으로 사용되고 있으며, 최근에는 선택적 COX-2 억제제도 다양

하게 개발되고 있다. 통상적으로 COX-2 억제제로 aspirin, sulindac, indomethacin, piroxicam, nimesulide, MF tricyclic and celecoxib 등이 사용되고 있는데, 항암화학요법 치료제로는 sulindac 등이 대장 용종의 발생을 억제하는 효과가 있는 것으로 보고되었다.²⁰⁾ 앞으로 COX-2 억제제를 이용한 암의 예방 및 치료에 대한 연구가 추가적으로 필요할 것으로 사료된다.

결론

타액선 양성 및 악성 종양을 대상으로 면역조직화학적 염색을 이용하여 COX-2의 발현율을 측정된 결과, COX-2는 정상 타액선 조직에서는 발현되지 않았고, 양성과 악성 종양에서 모두 발현되어 COX-2의 발현이 타액선 종양의 발생과 연관이 있을 것으로 생각되나 양성과 악성종양을 구별하는 표식자로서는 이용될수 없을 것으로 사료된다. 하지만 COX-2가 정상 조직에서도 발현되고, 암의 진행과 성장에 관련이 있다는 많은 보고들이 있으므로 COX-2의 발현 기전에 대한 연구 및 더 많은 증례를 통한 추가연구가 필요할 것이다.

중심 단어 : 타액선 종양 · cyclooxygenase-2.

REFERENCES

- 1) Egil Fosslie. *Molecular pathology of cyclooxygenase-2 in neoplasia. Ann Clin Lab Sci* 2000;30:3-21.
- 2) Williams CS, Mann M, Dubois RN. *The role of cyclooxygenase in inflammation, cancer and development. Oncogene* 1999;18:7908-16.
- 3) Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A, Giardiello FM, Ferrnbach S, Dubois RN. *Up-regulation of cyclooxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. Gastroenterology* 1994;107:1183-8.
- 4) Subbaramaiah K, Telang N, Ramonetti JT, Araki R, Devito D, Weksler BB, et al. *Transcription of cyclooxygenase-2 is enhanced in transformed mammary epithelial cells. Cancer Res* 1996;56:4424-9.
- 5) 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, specially in adenocarcinomas. Cancer Res* 1998;58:3761-4.
- 6) Turker ON, Dannenberg AJ, Yang EK, Zhang F, Teng L, Daly JM, et al. *Cyclooxygenase-2 expression is upregulated in human pancreatic cancer. Cancer Res* 1999;59:987-90.
- 7) Shirota G, Okubo M, Noumi T, Noguchi N, Oyama K, Takano Y, et al. *Cyclooxygenase-2 expression in hepatoce-*

- llular carcinoma. Hepatogastroenterology 1999;46:407-12.*
- 8) Mohammed SI, Knapp DW, Bostwick DG, Foster RS, Khan KN, Masfrer JL, et al. Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in human invasive transitional cell carcinoma (TCC) of the urinary bladder. *Cancer Res 1999;59:5647-50.*
 - 9) Yoshimura R, Sano H, Masuda C, Kawamura M, Tsubouchi Y, Chargui J, et al. Expression of cyclooxygenase-2 in prostate carcinoma. *Cancer 2000;89:589-96.*
 - 10) Leong J, Huges-Fulford M, Rakhlin N, Habib A, Macluf J, Goldyne ME. Cyclooxygenases in human and mouse skin and cultured human keratinocytes: association of COX-2 expression with human keratinocyte differentiation. *Exp Cell Res 1996;224:79-87.*
 - 11) Chan G, Boyle JO, Yang EK, Zhang F, Sacks PG, Shah JP, et al. Cyclooxygenase-2 expression in human thyroid carcinoma and Hashimoto's thyroiditis. *Laryngoscope 2002;112:238-42.*
 - 12) Sakurai K, Urade M, Nouguchi K, Kishimoto H, Ishibashi M, Yamamoto M, et al. Increased expression of cyclooxygenase-2 in human salivary gland tumors. *Pathol Int 2001;51:762-69.*
 - 13) Loy AHC, Putti TC, Tan LKS. Cyclooxygenase-2 expression in warthin's tumour. *J Laryngol Otol 2005 Jul;119(7):515-8.*
 - 14) Dubois RN, Tsujii N, Bishop P, Awad JA, Makita K, Lannahan A. Cloning and characterization of a growth factor-inducible cyclooxygenase gene from rat intestinal epithelial cells. *Am J Physiol 1994;266:G822-7.*
 - 15) Hempel SL, Monick MM, Hunninghake GW. Lipopolysaccharide induces prostaglandin H synthase-2 protein and mRNA in human alveolar macrophages and blood monocytes. *J Clin Invest 1994;93:391-6.*
 - 16) 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, specially in adenocarcinomas. *Cancer Res 1998;58:3761-4.*
 - 17) Zimmermann KC, Sarbia M, Weber AA, Borchard F, Gabbert HE, Schror K. Cyclooxygenase-2 expression in human esophageal carcinoma. *Cancer Res 1998;58:4997-5001.*
 - 18) Zimmermann KC, Sarbia M, Schror K, Weber AA. Constitutive cyclooxygenase-2 expression in healthy human and rabbit gastric mucosa. *Mol Pharmacol 1998;54:536-40.*
 - 19) Soo R, Putti T, Tao Q, Goh BC, Lee KH, Kow-seng L, Tan L, Hsieh WS. Overexpression of cyclooxygenase-2 in nasopharyngeal carcinoma and association with epidermal growth factor receptor expression. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2005 Feb;131(2):147-52.*
 - 20) Nugent KP, Farmer KC, Spiegelman AD, Williams CB, Phillips RK. Randomized double blind placebo controlled clinical trial of the effect of sulindac on duodenal and rectal polyposis and cell proliferation in familial adenomatous polyposis. *Br J Surg 1993;80:1618-9.*