

大肠肿瘤 COX-2 的表达与临床病理特征的关系

刘建平, 朱兆华

刘建平, 朱兆华, 中山大学附属第二医院消化内科 广东省广州市 510120
刘建平, 男, 1972-11-07 生, 湖南省新化县人, 汉族, 1995 年苏州医学院毕业,
2002-06 中山大学医学院硕士毕业, 住院医师, 主要从事消化道肿瘤诊治的研究。
项目负责人: 朱兆华, 510120, 广东省广州市沿江西路 107 号, 中山大学附属第
二医院消化内科。
电话: 020-81332490
收稿日期: 2002-07-16 接受日期: 2002-07-30

Correlation of COX-2 expression and clinicopathological features of colorectal cancer

Jian-Ping Liu, Zhao-Hua Zhu

Jian-Ping Liu, Zhao-Hua Zhu, Department of Gastroenterology, The
second affiliated Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510120,
Guandong Province, China
Correspondence to: Zhao-Hua Zhu, Department of Gastroenterology,
The second affiliated hospital, Sun Yat-Sen University, 107 Yang Jiang Lu,
Guangzhou 510120, Guandong Province, China
Received: 2002-07-16 Accepted: 2002-07-30

Abstract

AIM: To investigate the expression of COX-2 on different stages of colorectal cancer and the correlation between the expression of COX-2 and its clinicopathological features.

METHODS: The expression of COX-2 was determined by immunohistochemical staining in seventy-six surgical specimens of colorectal cancer (late stage 44 and early stage 32), 33 adenomas and 18 normal colonic mucosal tissues were biopsied endoscopically. The correlation of COX-2 with the survival rate was evaluated with Kaplan-Meier survival curves and Cox proportional hazards regression.

RESULTS: The degree of expression of COX-2 was categorized into 4 grades ranged from “-” to “+++”, the expression grades in series in normal colonic mucosal tissues was 83.3 %, 16.7 %, 0 %, 0 %, respectively; that in adenomas was 12.1 %, 42.4 %, 36.4 %, 9.1 %, respectively. The difference of the expression of COX-2 between late stage and early stage of colorectal cancer, and that between the late stage of cancer and adenoma were statistically significant ($P < 0.01$); however, no significant difference in the expression of COX-2 between early stage of cancer and adenoma was observed. A significant difference in the survival curves between low COX-2 expression group and high COX-2 expression group was showed by Kaplan-Meier survival analysis ($P < 0.05$). Cox proportional hazards regression indicated that the correlation of the expression of COX-2 with the poor long-term prognosis was existed with a hazard ratio of 2.665 unadjusted for other variables ($P < 0.05$); the expression of COX-2 was an independent risk factor for poor prognosis.

CONCLUSION: The expression of COX-2 is gradually up-regulated in the evolution of normal epithelium to adenoma

or from early stage to advanced stage of colorectal cancer. The expression of COX-2 is an independent risk factor of poor prognosis for postoperative patients with advanced colorectal cancer.

Liu JP, Zhu ZH. Correlation of COX-2 expression and clinicopathological features of colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11(3): 306-309

摘要

目的: 观察 COX-2 在大肠肿瘤不同发展阶段的表达, 研究 COX-2 的表达与大肠肿瘤各临床病理特征之间的关系。

方法: 使用免疫组化染色法分别研究了 76 例外科手术切除的原发性大肠癌石蜡标本 (早期大肠癌 32 例, 进展期大肠癌 44 例)、33 例大肠腺瘤、18 例正常大肠黏膜活检组织中 COX-2 蛋白的表达; 采用 K-M 半参数法和 Cox 模型分析 COX-2 蛋白的表达与进展期大肠癌预后的关系。

结果: 依表达程度由 (-) 至 (++) 四级计算, COX-2 的表达率在正常结肠黏膜中分别为 83.3 %, 16.7 %, 0 %, 0 %; 在结肠腺瘤中分别为 12.1 %, 42.4 %, 36.4 %, 9.1 %; 早期结肠癌中分别为 6.3 %, 28.1 %, 46.9 %, 18.7 %; 在进展期结肠癌中分别为 6.8 %, 20.5 %, 18.2 %, 54.5 %。除腺瘤组与早期癌组中 COX-2 的表达率无差别外, 其余两两之间 COX-2 的表达率均有显著性差异 ($P < 0.01$)。生存分析显示, COX-2 高表达组与低表达组之间的生存曲线有显著性差异 ($P < 0.05$)。Cox 模型中单因素分析显示 COX-2 表达的死亡风险比为 2.665 ($P < 0.05$); 多因素分析显示 COX-2 表达是与进展期大肠癌术后患者预后相关的独立危险因素。

结论: COX-2 的表达在由正常大肠黏膜至大肠腺瘤和早期癌至进展期大肠癌发展过程中呈上调趋势。COX-2 的表达是一种影响进展期大肠癌术后患者预后的独立危险因素。

刘建平, 朱兆华. 大肠肿瘤 COX-2 的表达与临床病理特征的关系. 世界华人消化杂志 2003;11(3):306-309
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/306.htm>

0 引言

环氧化酶(COX)是 - 完整的膜结合蛋白, 为花生四烯酸(AA)合成前列腺素(PGs)过程中的一个重要的限速酶^[1]。已知其有二种异构形式, 即 COX-1 和 COX-2。COX-1 属结构型酶。COX-2 属诱导型酶, 由位于染色体 1q25.2-25.3 的“迅速应答基因”所编码^[2], 其亚细胞定位在内质网

和核膜^[3], 在正常组织中不表达或微弱表达, 受生长因子和/或细胞因子、炎症递质、一氧化氮、血清素、促肿瘤剂、癌基因等因素刺激后 COX-2mRNA 很快增加, 升高可达 20-40 倍, 并在升高水平上维持 6-8 h, 24 h 后降至基础水平^[4,5]. COX-2 在多种肿瘤的发生、发展过程中起重要的作用^[6-14]. 但是仍不清楚 COX-2 在人大肠肿瘤发生、发展过程中的确切作用机制^[15]. 此外关于 COX-2 的表达与大肠肿瘤临床病理特征的关系, 文献报道结果不一.

1 材料和方法

1.1 材料 本院1992/2001年外科手术切除的原发性大肠癌石蜡标本共 76 例(早期大肠癌 32 例, 进展期大肠癌 44 例). 进展期大肠癌(下简称进展期癌)组:男 23 例, 女 21 例; 年龄 23-75, 平均 58 ± 12 岁; 癌灶 6.0 ± 3.3 cm. 早期大肠癌(下简称早期癌)组:男 25 例, 女 7 例; 年龄 33-78, 平均 58 ± 13 岁; 癌灶 2.4 ± 1.0 cm. 44 例进展期癌患者均有随访资料, 随访时间 36-70 mo, 平均 42 ± 20 mo. 而 32 例早期癌患者中失访 5 例, 随访时间 4-113 mo, 随访超过 36 mo 者仅 17 例. 内镜下息肉摘除术切下的大肠腺瘤 33 例. 男 16 例, 女 17 例. 年龄 20-79, 平均 57 ± 12 岁. 瘤灶平均 1.2 ± 0.9 cm. 内镜下取正常人大肠黏膜活检组织 18 例, 经组织病理学确认为正常肠黏膜组织. COX-2 兔抗人单克隆抗体(浓缩液)(SC-7951)、UltraSensitive™ S-P(Rabbit)免疫组化试剂盒(SP-9001)均购自北京中山生物技术有限公司.

1.2 方法 采用链霉菌抗生物素蛋白-生物素过氧化物酶免疫组化染色方法检测 COX-2 蛋白的表达^[16]. 实验步骤依照 S-P 试剂盒说明进行. COX-2 蛋白阳性染色定位于细胞质(呈棕黄色颗粒)或核膜(如图1). 参照 Sheehan (JAMA)、Hao^[17,18] 分类方法, 根据肿瘤细胞中 COX-2 蛋白染色的范围, 将染色分为 4 级:阳性细胞百分率 <1% 作为(-); 阳性细胞百分率 1-19% 作为(+); 阳性细胞百分率 20-49% 作为(++); 阳性细胞百分率 50% 作为(+++); 仅将(++)与(+++)级考虑为高表达, 归为高表达组; 将(-)与(+)级考虑为低表达, 归为低表达组.

统计学处理 计量资料用 t 检验, 计数资料用 R × C 列联表的 Fisher 精确概率法检验; 生存曲线应用 log-rank 检验. 用 SPSS10.0 和 SAS8.1 统计软件分析.

2 结果

棕黄色染色主要局限于细胞胞质, 少数出现于核膜. COX-2 蛋白表达可见于大肠肿瘤细胞、炎症细胞、单核细胞、血管内皮细胞、平滑肌细胞及成纤维细胞, 以大肠肿瘤细胞为主. COX-2 在正常大肠黏膜中不表达或微弱表达; 除早期癌组与腺瘤组中 COX-2 表达无统计学差异外; 其余组两两之间比较均有显著性差异($P < 0.01$). (表 1)

表 1 大肠肿瘤中 COX-2 的表达

分组	n	-	+	++	+++
进展期癌	44	3(6.8)	9(20.5)	8(18.2)	24(54.5) ^b
早期癌	32	2(6.3)	9(28.1)	15(46.9)	6(18.7) ^{b,d}
腺瘤	33	4(12.1)	14(42.4)	12(36.4)	3(9.1) ^{b,d}
正常黏膜	18	15(83.3)	3(16.7)	0(0)	0(0)

^bP < 0.01 vs 正常黏膜, ^dP < 0.01 vs 进展期癌.

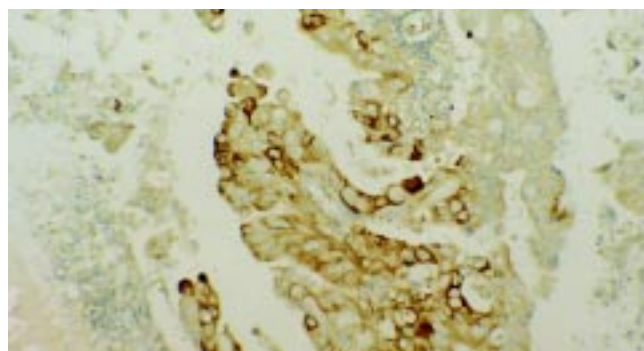


图 1 大肠腺癌细胞 COX-2 胞质染色(× 200).

2.1 COX-2 表达与大肠肿瘤临床病理特征的关系 COX-2 表达与进展期大肠癌被研究的各项临床病理特征无关. COX-2 的表达与早期大肠癌被研究的各项临床病理特征无关. COX-2 的表达与腺瘤被研究的各项临床病理特征无关.

2.2 COX-2 表达与进展期大肠癌患者的预后 因为早期癌组资料中随访时间超过 3 a 的样本量少, 死亡例数少(仅 3 例), 不满足生存分析的统计学要求, 故不予分析. 44 例进展期大肠癌患者中死亡 16 例, 生存 28 例, 其中 COX-2 高表达组($n=32$)死亡 15 例, COX-2 低表达组($n=12$)死亡 1 例. Kaplan-Meier 非参数法结果表明 3 a 累计生存率在 COX-2 低表达组为 100%; 而在 COX-2 高表达组为 62.5%. 经 log-rank 检验, COX-2 高表达组与低表达组的生存曲线有显著性差异($\chi^2=5.20$, $P=0.0225$) (图 2). 单因素分析结果显示淋巴结转移、Dukes 分期、COX-2 表达等 3 项因素均能影响进展期大肠癌患者生存时间. 分析远处转移因素时, 因为远处转移患者中无 COX-2 低表达病例, 回归系数为零, 不能在单因素分析中体现出该因素的死亡风险比(表 2). 多因素分析显示淋巴结转移、远处转移与 Dukes 分期三因素之间有显著相关. 其中, 淋巴结转移与远处转移的 Pearson 相关系数为 0.411; 远处转移与 Dukes 分期的 Pearson 相关系数为 0.628; 而淋巴结转移与 Dukes 分期的 Pearson 相关系数为 0.876; 经检验其 $P < 0.01$. 而前三项因素与 COX-2 表达这一因素之间的相关程度均较低($P > 0.05$). 提示在影响进展期大肠癌患者术后生存率的危险因素中, COX-2 的表达是一项独立的危险因素. 使用 Forward LR 方法分析, 经筛查变量, 结果只有 Dukes 分期和 COX-2 (分为 - - +++ 四级)两项变量进入

Cox 回归方程,表明淋巴结转移和远处转移是与 Dukes 分期高度相关的因素,实际上被包含在 Dukes 分期这一因素中,因而在 Cox 回归分析中被剔出.控制 Dukes 分期因素在平均水平后得出的 COX-2 在回归方程中的死亡风险比为 2.248(表 3).

表 2 单因素分析中各因素死亡风险比结果

	Exp(B)	95 % CI for Exp(B)	P value
COX-2	2.665	1.160-6.125	0.021
Dukes 分期	4.229	1.869-9.572	0.001
淋巴结转移	4.286	1.481-12.405	0.007
远处转移	1.000	0.025-40.540	1.000
分布部位	0.896	0.336-2.389	0.826
癌灶大小	1.012	0.860-1.189	0.890
分化程度	1.380	0.511-3.724	0.525
年龄	1.013	0.970-1.058	0.569
性别	2.023	0.691-5.925	0.199

Exp(B):危险比(死亡风险比); CI:可信区间; p value : P 值.

表 3 多因素分析中死亡风险比结果

	r	S _x	Wald	df	Sig	Exp(B)	95%CI for Exp(B)	
							Lower	Upper
COX-2	0.810	0.419	3.731	1	0.053	2.248	0.988	5.114
杜克分期	1.279	0.401	10.184	1	0.001	3.592	1.638	7.879

Wald: χ^2 统计量; df:自由度; Sig:显著性检验值; Exp(B):危险比(死亡风险比).

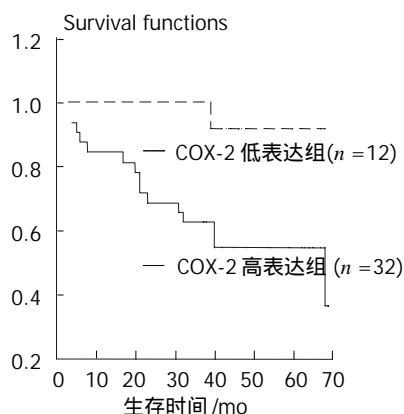


图 2 Kaplan - Meier 非参数法生存曲线图.

3 讨论

流行病学调查显示,长期规则服用 NSAID 人群中大肠癌的发病率下降 40-50 %^[19],且下降程度与所服用 NSAID 呈时间和剂量依赖性^[20],长期服用舒林酸(sulindac)使家族性腺瘤性息肉病患者的结肠息肉体积明显缩小,数量减少^[21],目前认为 NSAID 是通过抑制 COX-2 的表达进而诱导肿瘤细胞的凋亡,抑制生长因子及其受体等机制而发挥抗肿瘤作用^[22-27].多发性结肠腺瘤性息肉动物模型 APC⁷¹⁶ 小鼠的 COX-2 基因被敲

除(knock out)后,其后代发生结肠腺瘤性息肉的数目减少,体积亦减小^[28],证实 COX-2 在大肠息肉形成的早期阶段发挥关键作用^[29];特异性的 COX-2 抑制剂塞来希布(celecoxib)可显著抑制结肠腺瘤的发生^[30].COX-2 的表达在从正常黏膜至不典型增生以至癌变发展过程中呈逐渐上调趋势,85-95 % 的大肠腺癌和 40-50 % 的大肠腺瘤有 COX-2 蛋白的水平增高^[31,32],86 % (12/14) 的大肠癌和 43 % (6/14) 的大肠腺瘤 COX-2 mRNA 水平明显增高^[33].国内学者报道:COX-2 mRNA 表达在 30 % (3/10) 的大肠腺瘤和 70.8 % (17/24)-90 % (27/30) 的大肠腺癌中明显增高,而正常黏膜中无表达或表达很弱^[11,34].

文献报道:COX-2 的表达与腺瘤的大小和不典型增生程度无关,与腺瘤的分化程度、分布部位、淋巴结转移及 Dukes 分期无关^[5,35].我们研究的结果支持上述观点,但我们也发现 COX-2 的表达与大肠肿瘤的部分临床病理特征有关系,其中较有意义的是发现早期癌与进展期癌之间 COX-2 的表达有显著性差异,这一结果再次表明过少的样本数难以得出有价值的统计学结论,不采用较细的分层分析而轻易合并资料将在统计学上丢失有益的信息.多数研究在分析大肠癌 COX-2 的表达与其发展阶段的关系时,常因早期癌(A1 期)例数少,不能分析早期癌与进展期癌之间 COX-2 表达是否存在差异.此外我们在比较 32 例早期癌与 44 例进展期癌 COX-2 的表达时,曾将 COX-2 的表达简单分为高表达组和低表达组,未发现早期癌与进展期癌之间 COX-2 的表达有显著性差异,然而将 COX-2 的表达按染色的程度分为“- - +++”四个等级进行分析后,就发现早期癌与进展期癌之间 COX-2 的表达有显著性差异(P=0.006).这一结果也符合编码 COX-2 蛋白的“迅速应答基因”的反应特点^[2].

近年有些学者注意到,COX-2 的表达与大肠癌的预后相关.大肠癌 5 a 累计生存率在 COX-2 低表达组患者中为 91.6 %,而高表达组患者仅 40.5 %^[17].COX-2 的表达与大肠癌的淋巴结转移、异时肝转移(metachronous liver metastasis)相关,并且 COX-2 的表达是异时肝转移的独立危险因子^[36].Tomozawa et al^[37]认为 COX-2 的表达与大肠癌的术后复发相关:大肠癌术后复发率在 COX-2 高表达组明显高于 COX-2 低表达组,是与预后相关的独立危险因子.本研究结果支持这一观点.

4 参考文献

- 曹歌,沈志祥.前列腺素与结直肠肿瘤.世界华人消化杂志 2001; 9:431-434
- Kosaka T, Miyata A, Ihara H, Hara S, Sugimoto T, Takeda O, Takahashi E, Tanabe T. Characterization of the human gene (PTGS2) encoding prostaglandin-endoperoxide synthase. *Eur J Biochem* 1994;221:889-897
- Morita I, Schindler M, Regier MK, Otto JC, Hori T, DeWitt DL, Smith WL. Different intracellular locations for prostaglandin endoperoxide H synthase-1 and -2. *J Biol Chem* 1995;270:10902-10908
- Kinoshita T, Takahashi Y, Sakashita T, Inoue H, Tanabe T, Yoshimoto T. Growth stimulation and induction of epidermal

- growth factor receptor by overexpression of cyclooxygenases 1 and 2 in human colon carcinoma cells. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1438:120-130
- 5 Hla T, Neilson K. Human cyclooxygenase-2 cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:7384-7388
 - 6 Wu QM, Li SB, Wang Q, Wang DH, Li XB, Liu CZ. The expression of COX-2 in esophageal carcinoma and its relation to clinicopathologic characteristic. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:11-14
 - 7 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
 - 8 Tucker ON, Dannenberg AJ, Yang EK, Zhang F. Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in human pancreatic cancer. *Cancer Res* 1999;59:987-990
 - 9 邵恒骏, 于连珍, 孙亮, 白剑峰, 张小勇, 吕秀珍, 赵志泉. 胃癌及癌旁组织中 COX-2 基因蛋白的表达. *世界华人消化杂志* 2000; 8:578-579
 - 10 Ristimaki A, Honkanen N, Jankala H, Sipponen P, Harkonen M. Expression of cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma. *Cancer Res* 1997;57:1276-1280
 - 11 Shen ZX, Cao G, Sun J. The clinical and pathology effect of COX-2 mRNA expression in colorectal cancers. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:1082-1084
 - 12 Wolff H, Saukkonen K, Anttila S, Schramm U, Wolff HH. Expression of cyclooxygenase-2 in human lung carcinoma. *Cancer Res* 1998;58:4997-5001
 - 13 Hwang D, Scollard D, Byrne J, Levine E. Expression of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in human breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:455-460
 - 14 Shiota G, Okubo M, Noumi T, Noguchi N, Oyama K, Takano Y, Yashima K, Kishimoto Y, Kawasaki H. Cyclooxygenase-2 expression in hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 1999; 46:407-412
 - 15 Vainio H. Is COX-2 inhibition a panacea for cancer prevention? *Int J Cancer* 2001;94:613-614
 - 16 Pagano M, 张世馥. 细胞周期 - 材料和方法. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2000:10-12
 - 17 Sheehan KM, Sheahan K, O'Donoghue DP, MacSweeney F, Conroy RM, Fitzgerald DJ, Murray FE. The relationship between cyclooxygenase-2 expression and colorectal cancer. *JAMA* 1999; 282:1254-1257
 - 18 Hao X, Bishop AE, Wallace M, Wang H, Willcocks TC, MacLough J, Polak JM, Knight S, Talbot IC. Early expression of cyclooxygenase-2 during sporadic colorectal carcinogenesis. *J Pathol* 1999;187:295-301
 - 19 Kune GA, Kune S, Watson LF. Colorectal cancer risk, chronic illnesses, operations, and medications: case control results from the Melbourne Colorectal Cancer Study. *Cancer Res* 1988;48:4399-4404
 - 20 Rosenberg L, Palmer JR, Zaubler AG, Warshauer ME, Stolley PD, Shapiro S. A hypothesis: nonsteroidal anti-inflammatory drugs reduce the incidence of large-bowel cancer. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83:355-358
 - 21 Giardiello FM, Hamilton SR, Krush AJ. Treatment of colonic and rectal adenomas with sulindac in familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med* 1993;328:1313-1316
 - 22 Sun B, Wu YL, Zhang XJ, Wang SN, He HY, Qiao MM, Zhang YP, Zhong J. Effects of Sulindac on growth inhibition and apoptosis induction in human gastric cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:997-1002
 - 23 Wu YL, Sun B, Zhang XJ, Wang SN, He HY, Qiao MM, Zhong J, Xu JY. Growth inhibition and apoptosis induction of Sulindac on Human gastric cancer cells. *World J Gastroenterol* 2001;7:796-800
 - 24 Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, Sawaoka H, Hori M, DuBois RN. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 1998;93:705-716
 - 25 Cianchi F, Cortesini C, Bechi P, Fantappie O, Messerini L, Vannacci A, Sardi I, Baroni G, Boddi V, Mazzanti R, Masini E. Up-regulation of cyclooxygenase-2 gene expression correlates with tumor angiogenesis in human colorectal cancer. *Gastroenterology* 2001;121:1339-1347
 - 26 Daniel TO, Liu H, Morrow JD, Crews BC, Marnett LJ. Thromboxane A2 is a mediator of cyclooxygenase-2-dependent endothelial migration and angiogenesis. *Cancer Res* 1999;59:4574-4577
 - 27 Tian G, Yu JP, Luo HS, Yu BP, Yue H, Li JY, Mei Q. Effect of Nimesulide on proliferation and apoptosis of human hepatoma SMMC-7721 cells. *World J Gastroenterol* 2002;8:483-487
 - 28 Oshima M, Dinchuk JE, Kargman SL, Oshima H. Suppression of intestinal polyposis in Apc delta716 knockout mice by inhibition of cyclooxygenase 2 (COX-2). *Cell* 1996;87:803-809
 - 29 Bamba H, Ota S, Kato A, Adachi A, Itoyama S, Matsuzaki F. High expression of cyclooxygenase-2 in macrophages of human colonic adenoma. *Int J Cancer* 1999;83:470-475
 - 30 Reddy BS, Hirose Y, Lubet R, Steele V, Kelloff G, Paulson S, Seibert K, Rao CV. Chemoprevention of colon cancer by specific cyclooxygenase-2 inhibitor, celecoxib, administered during different stages of carcinogenesis. *Cancer Res* 2000;60:293-297
 - 31 Boolbol SK, Dannenberg AJ, Chadburn A, Martucci C, Guo XJ, Ramonetti JT, Abreu-Goris M, Newmark HL, Lipkin ML, DeCoss JJ, Bertagnolli MM. Cyclooxygenase-2 overexpression and tumor formation are blocked by sulindac in a murine model of familial adenomatous polyposis. *Cancer Res* 1996;56:2556-2560
 - 32 DuBois RN, Shao J, Tsujii M, Sheng H, Beauchamp RD. G1 delay in cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase-2. *Cancer Res* 1996;56:733-737
 - 33 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
 - 34 Gao SK, Liu ZB, Zhao JX, Wan YL, Liu YC, Xiu WH. Expression of cyclooxygenase-2 gene in human colorectal tumors. *Chin J Gen Surg* 2000;15:663-667
 - 35 Maekawa M, Sugano K, Sano H, Miyazaki S, Ushiyama M, Fujita S, Gotoda T, Yokota T, Ohkura H, Kakizoe T, Sekiya T. Increased expression of cyclooxygenase-2 to -1 in human colorectal cancers and adenomas, but not in hyperplastic polyps. *Jpn J Clin Oncol* 1998;28:421-426
 - 36 Yamauchi T, Watanabe M, Kubota T, Hasegawa H, Ishii Y, Endo T, Kabeshima Y, Yorozyu K, Yamamoto K, Mukai M, Kitajima M. Cyclooxygenase-2 expression as a new marker for patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2002;45:98-103
 - 37 Tomozawa S, Tsuno NH, Sunami E, Hatano K, Kitayama J, Osada T, Saito S, Tsuruo T, Shibata Y, Nagawa H. Cyclooxygenase-2 overexpression correlates with tumour recurrence, especially haematogenous metastasis, of colorectal cancer. *Br J Cancer* 2000; 83:324-328