

대장-직장암에서 Cyclooxygenase-2의 발현

가톨릭대학교 의과대학 외과학교실, ¹상쾌한아침외과

강원경 · 천준성 · 장세진 · 조현민 · 천성원¹ · 안창혁 · 오승택

Cyclooxygenase-2 Expression in Colorectal Cancer

Won-Kyung Kang, M.D., Joon-Sung Cheon, M.D., Seh-Jin Chang, M.D., Hyun-Min Cho, M.D., Sung-Won Chun, M.D.¹, Chang-Hyeok An, M.D., Seong-Taek Oh, M.D.

Department of Surgery, College of Medicine, The Catholic University of Korea and ¹Good morning Colorectal Clinic, Seoul, Korea

Purpose: Cyclooxygenase (COX) is an important enzyme that transforms arachidonic acid into prostaglandins and exists as two types of isoenzyme, COX-1 and COX-2. Recently, the expression of COX-2 was presented as an important factor in determining the prognosis in colorectal cancer, and the expressed COX-2 was related with recurrence and liver metastasis after an operation for colorectal cancer. Thus this study was to investigate the relationship between COX-2 expression and the prognosis for colorectal cancer.

Methods: We studied colorectal cancer patients who received operations at the Catholic University of Korea from Jan. 1993 through Dec. 2000, by reviewing their medical records and pathological reports. We used immunohistochemistry to determine the expression rate of COX-2 and to study its relationship with other clinical variables, the disease-free survival rate, and the recurrence rate.

Results: Among the 217 cases, 171 cases (78.8%) showed positive COX-2 expression. The COX-2 expression increased with the differentiation and was lower in cases with lymph-node metastasis. However, no statistically significant difference in age, sex, location of lesion, invasiveness, stage, organ of metastasis, disease-free survival rate, and recurrence existed between patients with positive COX-2 expression and those with negative COX-2 expression.

Conclusions: There is no evidence that COX-2 expression is associated with a poor prognosis for colorectal cancer. *J Korean Soc Coloproctol 2004;20:112-117*

Key Words : Cyclooxygenase, Colorectal neoplasm, Prognosis
Cyclooxygenase, 대장-직장암, 예후

책임저자: 오승택, 서울시 서초구 반포4동 505번지
가톨릭대학교 강남성모병원 외과 (우편번호: 137-701)
Tel: 02-590-1436, Fax: 02-595-2992
E-mail: stoh@catholic.ac.kr

이 논문은 2003년 추계 대장항문학회에서 포스터 구연되었으며 (주)사노피-신테라보코리아의 연구비에 의해서 수행되었음.

서 론

Cyclooxygenase (COX)는 아라키돈산(arachidonic acid)을 프로스타글란딘(prostaglandin)으로 전환시키는 데 중요한 역할을 하는 효소로, COX에는 2가지 형태의 동형 효소(isoform enzyme)가 존재하는 것이 알려졌고, 각각 발견된 순서에 따라 COX-1과 COX-2로 명명되었다. COX-1은 대부분의 정상 조직에서 발현되어 있으며, 위점막의 보호, 혈액 응고 작용, 신장 기능 조절 등의 관리역할(housekeeping)을 하지만, COX-2는 매개체에 의해 유도되어 나타나며, 통증, 염증, 발열작용 등에 관여하며, 근래에는 세포의 자연사(apoptosis) 억제 및 여러 가지 종양의 증식 과정에 관여함이 밝혀졌다.^{1,2}

1990년대 초반부터 발표된 여러 역학 자료에서 아스피린이나 다른 비스테로이드성 항염제(nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)를 규칙적으로 복용하는 사람들에서 대장-직장암의 상대위험도가 40~50% 더 낮게 나타났다는 보고³ 이후 COX-2와 결장직장암과의 연관성에 대한 많은 연구가 시작되었다. Sano 등⁴은 COX-2가 결장직장 선종에서 약 40% 및 결장직장암에서 약 85%로 높게 발현됨을 보고하였고, Tomozawa 등⁵은 대장-직장암에서 COX-2 발현이 암의 재발, 특히 혈행성 전이와 높은 상관관계가 있다고 보고하였다. Chen 등⁶은 간 전이가 있는 결장암 환자에서 결장의 정상 조직과 결장암 조직, 그리고 전이된 간 조직에서 각각 COX-2 발현을 비교해 본 결과 정상조직, 결장암 조직, 전이된 간 조직의 순서로 COX-2의 발현 빈도가 증가된다고 보고하여 COX-2 발현율이 결장암 환자의 재발률이나 생존율 등 예후와 상관관계가 있을 것임을 시사하고 있다. Yamauchi 등⁷은 결장직장암의 예후를 결정짓는 중요한 요소로서 COX-2 발현율을 제시하였으며, 수술 후 간 전이와 COX-2 발현이 상관관계가 있다고 보고하였다.

이에 본 연구에서는 대장-직장암 환자를 대상으로 COX-2 일차 항체를 이용한 면역조직화학법을 이용하여

대장-직장암 환자의 종양조직에서 COX-2 발현을 관찰하여, 여러 임상 병리학적 요인과의 상관관계를 밝히고, COX-2 발현과 암의 재발 및 환자의 생존율과의 관련성을 규명하여 수술 후 환자를 추적 검사함에 있어 예후 인자로서의 가능성을 규명하고자 하였다.

방 법

1) 연구대상

1993년 1월부터 2000년 12월까지 가톨릭대학교 의과대학 의정부성모병원 외과에서 대장-직장암으로 진단받고 수술로 절제가 가능했던 환자 중에서 임상기록 조회 및 조직 표본 이용이 가능하였던 217예를 대상으로 하였으며 2002년 9월까지 추적조사를 하였다. 각 예의 COX-2의 면역조직화학염색 결과에 따라 양성군과 음성군으로 구분한 후 각 군의 성별, 분화도, 부위, 병기, 림프절 전이, 원격 전이, 재발 유무 등의 인자를 조사하여 분석하였다.

2) 연구방법

(1) 면역조직화학적 염색: 수술 시 얻은 조직을 중성 포르말린 용액에 고정하여 파라핀에 포매하고, 4µm 두께로 잘라 규소로 처리된 슬라이드(probe on plus slide®; Fisher Scientific Co., Pittsburgh, PA, USA)에 부착시켜 xylene에 3분간 3회 처리하여 파라핀을 제거한 후, 100%, 85%, 70%, 50% 알코올에 3분씩 처리 후 증류수에 넣어 흡수화하였다. 10 mM citrate 완충액(pH 6.0)에 넣어 121°C에서 10분간 가압 멸균한 후 조직 표본 위에 과산화 분해효소 차단 용액(peroxidase- blocking solution)을 떨어

뜨려 10분간 두어 내인성 과산화분해효소(peroxidase)를 정지시키고, Tris 완충액으로 씻어 비면역 혈청(non-immune serum)과 실온에서 10분간 반응시킨 후, 1 : 100으로 희석한 COX-2 일차항체(Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA)와 4°C에서 하루 동안 반응시켰다. Tris 완충액으로 씻어 이차 항체인 biotinylated polyvalent antibody (Histostatin-Plus, Zymed, San Francisco, CA, USA)를 실온에서 10분간 반응시킨 후 Tris 완충액으로 씻고 streptavidin 과산화분해효소와 10분간 반응시켰다. Tris 완충액으로 씻고 발색시약(3, 3'-Diaminobenzidine)으로 약 5분간 염색한 후 물로 세척하고, hematoxylin으로 대조 염색한 후 알코올과 xylene으로 탈수시켜 canada balsam으로 봉입한 후 광학현미경으로 검경하였다.

(2) 면역조직화학염색 결과 판정: 단백질 발현에 대한 평가는 면역조직화학염색의 강도(intensity)와 범위(extent or distribution)로 얻어진 염색 지수를 구하여 판정하였으며 이는 Youkawa 등⁸이 보고한 방법과 이를 약간 변형시킨 Sato 등⁹이 보고한 방법을 좀 더 변형하여 이용하였다. 즉, 두 명의 병리의사가 독립적으로 판독하였고, 염색된 정도(intensity)를 0 (안됨), 1 (약함), 2 (중등도), 3 (강함)으로 구분하고, 염색 범위를 0 (염색 안 됨), 1 (10% 이내), 2 (10~50%), 3 (50% 이상)으로 구분하여 각각에 대해 이들 두 수치의 합인 염색 지수를 구하여 염색 지수가 5 이상인 경우를 양성군, 4 이하인 경우를 음성군으로 분류하였다(Fig. 1, 2).

3) 통계적 분석

COX-2의 발현율과 임상 변수, 재발률과의 상관관계에

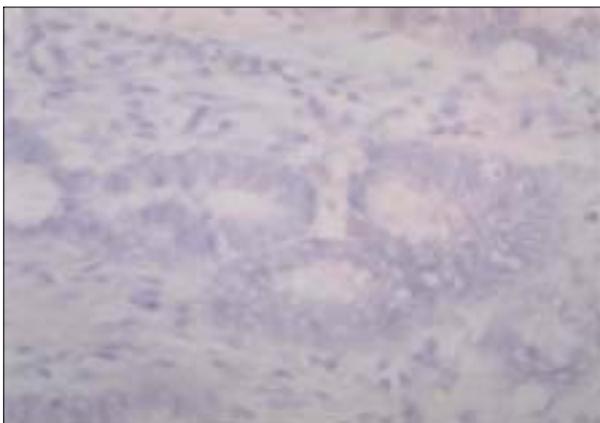


Fig. 1. Immunohistochemical staining finding of COX-2 negative in colorectal cancer tissue (×400). COX-2 immunoreactivities are weakly detected in epithelial cells, inflammatory cells and fibroblasts.

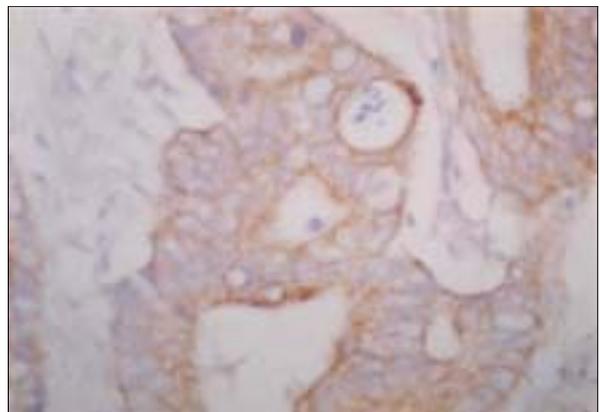


Fig. 2. Immunohistochemical staining finding of COX-2 positive in colorectal cancer tissue (×400). Positive staining patterns are detected in cancer cells.

대한 통계 분석은 unpaired t-test와 chi-square test를 이용하여 P value를 구한 후 P<0.05인 경우를 의의 있다고 판정하였고, 생존 곡선은 Kaplan-Meier 방법을 이용하였으며, 통계적 검정은 Peto의 log-rank test로 하였다.

결 과

1) 대상 환자의 특성

전체 대장-직장암 217예 중 171예에서 COX-2의 양성 발현을 보여 78.8%의 발현율을 나타냈다. 평균 연령은 양성군 61.3±12.1세, 음성군 59.0±10.7세로 나이에 따른 COX-2 발현의 차이는 없었으며(P=0.365), 양성군의 경우 171예 중 남자 102예(59.7%), 여자 69예(40.3%), 음성군의 경우 46예 중 남자 27예(58.7%), 여자 19예(41.3%)를 보여 성비의 차이는 없었다(P=0.907). 한편 전체 환자 중 결장암은 125예로 이 중 97예(77.6%)가 양성이었고, 직장암 92예 중 74예(80.4%)에서 양성 발현을 보여 병변의 위치에 따른 발현율의 차이는 없었다(P=0.614).

2) 조직의 분화도에 따른 발현 양상

양성군에서 고분화암이 33예(19.3%), 중분화암이 113예(66.1%), 미분화암이 24예(14.0%), 점액성암이 1예(0.6%)였고, 음성군에서는 각각 5예(10.9%), 27예(58.7%), 9예(19.6%), 5예(10.9%)로 나타나 고분화 및 중분화암에서 통계적으로 의의 있게 높은 COX-2 발현을 보였다(P=0.003).

3) 암의 침윤도와 림프절 침윤에 따른 발현 양상

양성군에서는 장막(serosa)층 이상 침윤된 경우가 144예(84.2%), 장막층을 침윤하지 않은 경우가 27예(15.8%)였고, 음성군은 각각 41예(89.1%), 5예(10.9%)로 의의 있는 차이가 없었다(P=0.403). 림프절 전이에 따른 발현은 양성군에서는 림프절에 전이가 있었던 경우가 80예(46.8%), 없었던 경우가 91예(53.2%)이고, 음성군에서는 각각 29예(63.0%), 17예(37.0%)로 림프절 전이가 있을 경우에 COX-2 발현이 더 낮게 나타났다(P=0.005).

4) 병기에 따른 발현 양상

수정된 듀크씨 병기에 의한 분류에서 양성군에서는 병기 A가 5예(2.9%), 병기 B1, B2가 86예(50.3%), 병기 C1, C2가 64예(37.4%), 병기 D가 16예(9.4%)였고, 음성군에서는 각각 2예(4.4%), 15예(32.6%), 26예(56.5%), 3예(6.5%)로 병기의 진행에 따른 COX-2의 발현은 차이가 없었다(P=0.103).

Table 1. Clinicopathological features related to COX-2 expression in colorectal cancer

	COX-2 Expression		P value
	Negative	Positive	
No. of patients	46 (21.2%)	171 (78.8%)	
Age	59.0±10.7	61.3±12.1	0.365
Sex	Male	27 (58.7%)	0.907
	Female	19 (41.3%)	
Location	Colon	28 (60.9%)	0.614
	Rectum	18 (39.1%)	
Differentiation	Well	5 (10.9%)	0.003
	Moderate	27 (58.7%)	
	Poor	9 (19.5%)	
	Mucinous	5 (10.9%)	
Depth of invasion (serosa involvement)	(-)	5 (10.9%)	0.406
	(+)	41 (89.1%)	
Lymph node metastasis	(-)	17 (37.0%)	0.050
	(+)	29 (63.0%)	
Stage	A	2 (4.4%)	0.103
	B1, B2	15 (32.6%)	
	C1, C2	26 (56.5%)	
	D	3 (6.5%)	
Recurrence	Not recur	30 (63.8%)	0.142
	Recur	17 (36.2%)	
Recurrence type	Local recur	4 (23.5%)	0.229
	Distant metastasis	13 (76.5%)	
	Liver	7 (41.2%)	
	Lung	3 (17.7%)	
	Bone	1 (5.9%)	
	Peritoneum	2 (11.7%)	

5) 국소 재발 및 원격 전이에 따른 발현 양상

217예 중 59예(27.2%)에서 국소 재발 및 원격 전이가 있었다. 양성군에서는 42예(24.1%), 음성군에서는 17예(36.2%)에서 재발하여 두 군 간의 재발률은 유의한 차이가 없었다(P=0.142). 양성군에서는 국소 재발 7예(16.7%), 원격 전이 35예(83.3%)였고, 음성군에서는 국소 재발 4예(23.5%), 원격 전이 13예(76.5%)로 COX-2의 발현과 재발 양상과도 관계가 없었다(P=0.229). 원격 전이된 장소에 따른 COX-2의 발현의 비교에서도 간 전이 22예 중 양성

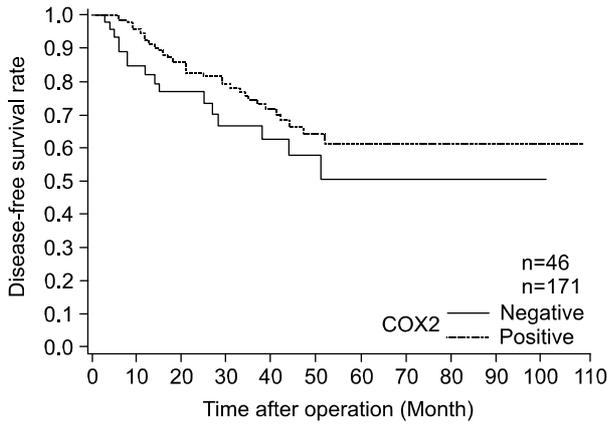


Fig. 3. Disease-free survival rate of patients with and without COX-2 expression. The disease-free survival rate of patients has no significant difference between COX-2 positive and negative group ($P=0.147$).

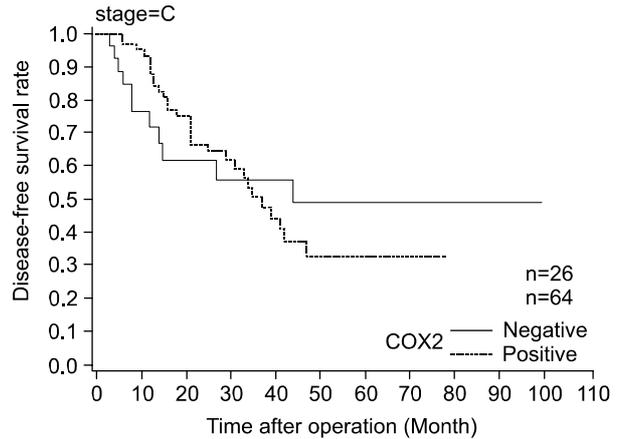


Fig. 5. Disease-free survival rate of patients in stage C. The disease free survival rate of patients has no significant difference between COX-2 positive and negative group ($P=0.956$).

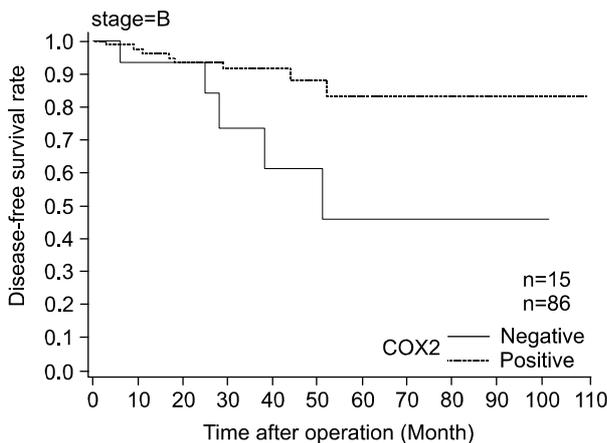


Fig. 4. Disease-free survival rate of patients in stage B. Patients with COX-2 expression show a significantly better outcome compared with those without COX-2 expression ($P=0.018$).

군 15예(68.2%), 음성군 7예(31.8%)였고, 폐 전이 14예 중 양성군 11예(78.6%), 음성군 7예(21.4%), 골 전이 7예 중 양성군 6예(85.7%), 음성군 1예(14.3%), 복막 전이 5예 중 양성군 3예(60.0%), 음성군 2예(40.0%)로 나타나 모두 통계적 의의가 없었다(Table 1).

6) COX-2 발현과 무병 생존율

COX-2 발현에 따른 무병 생존율은 차이가 없었으나 ($P=0.147$, Fig. 3), 병기에 따른 각각의 무병 생존율을 비교해 보면 병기 B1과 B2에서 COX-2 양성군에서 음성군에 비하여 무병 생존율이 높게 나타났으나($P=0.018$, Fig. 4), 병기 C에서는 COX-2 발현에 따른 무병 생존율의 차이는

없었다($P=0.956$, Fig. 5). 병기 A와 병기 D에서는 그 수가 적어 통계적 의의가 없어서 비교에서 제외하였다.

고 찰

1990년대 초반부터 발표된 여러 역학 자료들^{3,10-14}에서 aspirin이나 NSAIDs를 규칙적으로 복용하는 사람들에서 대장-직장암의 상대위험도가 40~50% 더 낮게 나타났다는 보고 이후 COX-2와 암과의 연관성에 대한 많은 연구가 시작되었다. Giardiello 등¹⁵은 가족성 대장 용종증 환자에게 NSAIDs를 장기적으로 투여한 결과 용종의 크기와 수가 감소된다고 보고하였으며, Williams 등³은 동물 실험에서 유전적인 경우와 암 유발 인자에 의한 경우 모두에서 NSAIDs의 투여로 종양의 수적 감소를 보였다고 보고하였다. 또한 인체 및 동물의 대장-직장암세포에서 COX-2의 발현율이 정상 장점막에서 보다 매우 높게 나타났으며,^{3,16-18} 이는 본 연구에서도 결장직장암 환자의 암 조직에서 전체 217예 중 171예(78.8%)에서 COX-2가 높은 빈도로 발현되어 유사한 결과를 보였다. 유전적인 근거로는 Oshima 등¹⁹이 APC^{Δ716} knockout mouse model을 이용한 장의 용종 형성에 COX-2가 매우 조기에 유도되고, COX-2 gene knockout mouse에서나 COX-2 특이 억제제를 사용할 때 모두 용종의 수, 크기가 크게 감소됨을 확인하였다고 보고하였다. 김 등²⁰은 여러 임상 변수와 COX-2 발현과의 관계에서 암의 분화도가 좋고 병기(AJCC/UICC TNM병기)가 낮을수록 COX-2 발현율이 높은 것을 보고하여 COX-2가 비교적 암 발생의 초기에 관여한다고 하였다. 이는 본 연구에서도 암의 분화도가 좋을수록 COX-2

발현율이 높게 나타나 같은 결과를 얻었다.

대장-직장암에서의 COX-2 발현에 따른 여러 임상 변수 및 예후와의 관계에 대한 연구에서 Sheehan 등²¹은 COX-2가 강하게 발현될수록 예후가 나빴고, COX-2 발현이 종양의 진행도, 크기, 림프절 전이와 관련이 있다고 보고하였고, Shattuck-Brandt 등²²은 대장암의 분화가 좋을수록 COX-2 발현이 강하게 나타난다고 하였으며, Tomozawa 등⁵은 대장-직장암에서 COX-2 발현이 암의 재발 특히 혈행성 전이와 높은 상관관계가 있음을 보고하였다. 또한 Chen 등⁶은 간 전이가 있는 결장암 환자에서 결장의 정상조직과 결장암 조직, 그리고 전이된 간 조직에서 각각 COX-2 발현을 비교해 본 결과 정상 조직, 결장암 조직, 전이된 간 조직의 순서로 COX-2 발현율이 증가된다고 보고하여 대장-직장암에서의 COX-2 발현이 암세포의 침윤성 및 전이와 관계가 있다고 하였다. Yamauchi 등⁷은 대장-직장암에서 분화도가 좋을수록, 침윤도가 높을수록, 병기(AJCC/UICC TNM병기)가 높을수록 COX-2의 발현율이 높았으며, 특히 간 전이와 높은 상관관계가 있고, 무병 생존율이 COX-2가 발현된 군에서 더 나쁘다고 보고하여 COX-2 발현이 대장-직장암의 예후인자로서 역할을 한다고 보고하였다.

본 연구에서는 여러 임상병리 변수 중 암 분화도가 좋을수록 COX-2 발현이 높게 나타났으나, 암 침윤도에서 상관관계를 찾지 못하였고, 림프절 전이는 COX-2가 발현된 군에서 오히려 더 낮게 나타났다. 무병 생존율에 있어서 COX-2 발현에 따른 차이가 없는 것으로 조사되었을 뿐 아니라, 병기 B1과 B2, 즉 림프절 전이가 없는 군에서는 오히려 COX-2가 발현된 군의 무병 생존율이 더 좋게 나타나 COX-2 발현 시 예후가 나쁠 것으로 보고한 기존 연구의 보고와 다른 결과를 얻었다. 재발에 있어서는 COX-2 발현과 관계가 없는 것으로 나타났고, 재발 양상에 있어서도 원격 전이와 국소 재발이 유의한 차이가 없었다. 또한 원격 전이된 경우 간 전이와의 특이한 상관관계를 보이지 않았을 뿐 아니라, 폐 전이, 골 전이, 복막 전이와도 특이한 상관관계가 나타나지 않았으며, 이 밖에 COX-2의 양성 발현율이 성별 및 나이, 병변의 위치에 따른 차이도 없었다.

한편 본 연구에서 염색 정도를 판정함에 있어 기존의 방법과 약간 다르게 염색 정도를 판정할 때 기존의 3단계로 분류하던 것을 중등도 단계를 추가하여 4단계로 분류하였는데 이는 중간 정도의 염색 단계가 약함이나 강함으로 판단되어 일으킬 수 있는 오류를 방지하기 위함이었다. 또한 염색 범위도 가능하면 50%를 중심으로 양성 판정이 될 수 있도록 수정하였다.

이상의 결과를 종합할 때, 암의 분화도가 좋을수록 COX-2의 발현율이 높았고, 림프절 전이가 없는 경우 COX-2 발현율이 더 높아 기존의 보고들과 유사한 결과를 보였다. 그리고 무병 생존율과 재발률에 있어서 COX-2 발현에 따른 차이가 없었으나, 림프절 전이가 없는 경우에는 COX-2가 발현된 군의 무병 생존율이 높아 본 연구에서는 COX-2가 발현하면 나쁜 예후를 갖게 된다는 근거를 찾지 못하였다. 이는 기존의 연구 결과와는 상이한 결과를 보여주었지만 양 등²의 보고와는 일치하는 결과를 보여 한국인에서는 어떤 다른 인자가 상호작용을 할 수도 있다는 가능성을 제시해 주었다. 그렇지만 염색 지수의 판정 방법에 따른 차이로는 생각되지 않는다. 한편 초기 암발생과 관계 있다고 보고가²³되고 있는 inducible nitric oxide synthetase의 역할 등과 또 아직 밝혀지지 않은 다른 인자들에 대한 연구가 계속되어야 하겠다. 또한 추가적으로 더 많은 실험군을 대상으로 한 연구와 이번 연구에서는 고려하지 못한 수술 후 항암화학요법과의 연관성도 추가되어야 하겠다.

결 론

본 연구에서 대장-직장암 환자에서 COX-2 발현이 음성군에 비해 나쁜 예후를 갖게 된다는 근거를 찾지 못하였다. 이러한 결론은 기존의 연구와는 차이를 보이는 것으로 대장-직장암으로 수술을 시행 후 절제된 암 조직에서 면역조직화학염색법을 이용한 COX-2 발현을 결장암의 예후 인자로 사용하기 위해서는 본 연구에서는 고려하지 못한 수술 후 항암치료와의 연관성에 대한 연구와 함께 또 다른 상관 인자의 발견을 위한 연구가 필요하겠다.

REFERENCES

1. Goodwin JS, Ceuppens J. Regulation of the immune response by prostaglandins. *J Clin Immunol* 1983;3: 295-315.
2. 양근호, 배병노, 김정연, 김기환, 한세환, 김홍주 등. 결장 직장암에서의 cyclooxygenase -2와 inducible nitric oxide synthetase의 발현. *대한대장항문학회지* 2003;19:144-51.
3. Williams CS, Smalley W, DuBois RN. Aspirin use and potential mechanisms for colorectal cancer prevention. *J Clin Invest* 1997;100:1325-9.
4. Sano H, Kawahito Y, Wilder RL, Hashiramoto A, Mukai S, Asai K, et al. Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in human colorectal cancer. *Cancer Res* 1995;55:3785-9.
5. Tomozawa S, Tsuno NH, Sunami E, Hatano K, Kitayama

- J, Osada T, et al. Cyclooxygenase-2 overexpression correlates with tumour recurrence, especially haematogenous metastasis, of colorectal cancer. *Br J Cancer* 2000;83:324-8.
6. Chen WS, Wei SJ, Liu JM, Hsiao M, Kou-Lin J, Yang WK. Tumor invasiveness and liver metastasis of colon cancer cells correlated with cyclooxygenase-2 (COX-2) expression and inhibited by a COX-2 selective inhibitor, etodolac. *Int J Cancer* 2001;91:894-9.
 7. Yamauchi T, Watanabe M, Kubota T, Hasegawa H, Ishii Y, Endo T, et al. Cyclooxygenase-2 expression as a new marker for patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2002;45:98-103.
 8. Youkawa M, Fujimori T, Maeda S, Tabuchi M, Nagasako K. Comparative clinicopathological and immunohistochemical study of ras and p53 in flat and polypoid type colorectal tumours. *Gut* 1994;35:1258-61.
 9. Sato T, Yoshinaga K, Okabe S, Okawa T, Enmoto M, Takizawa T, et al. Cyclooxygenase-2 expression in colorectal adenomas. *Dis Colon Rectum* 2003;46:786-92.
 10. Thun MJ, Namboodiri MM, Heath CW Jr. Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer. *N Engl J Med* 1991;325:1593-6.
 11. Thun MJ, Namboodiri MM, Calle EE, Flanders WD, Heath CW Jr. Aspirin use and risk of fatal cancer. *Cancer Res* 1993;53:1322-7.
 12. Giovannucci E, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Ascherio A, Willett WC. Aspirin use and the risk for colorectal cancer and adenoma in male health professionals. *Ann Intern Med* 1994;121:241-6.
 13. 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;333:609-14.
 14. Smalley WE, DuBois RN. Colorectal cancer and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Adv Pharmacol* 1997;39:1-20.
 15. Giardiello FM, Offerhaus GJA, DuBois RN. The role of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in colorectal cancer prevention. *Eur J Cancer* 1995;31:1071-6.
 16. Kutchera W, Jones DA, Matsunami N, Groden J, McIntyre TM, Zimmerman GA, et al. Prostaglandin H synthase 2 is expressed abnormally in human colon cancer: evidence for a transcriptional effect. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:4816-20.
 17. 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;107:1183-8.
 18. Kargman SL, O'Neill GP, Vickers PJ, Evans JF, Mancini JA, Jothy S. Expression of prostaglandin G/H synthase-1 and -2 protein in human colon cancer. *Cancer Res* 1995;55:2556-9.
 19. Oshima M, Dinchuk JE, Kargman SL, Oshima H, Hancock B, Kwong E, et al. Suppression of intestinal polyposis in APC^{Δ716} knockout mice by inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2). *Cell* 1996;87:803-9.
 20. 김형석, 허태길, 홍성우, 주미, 장여구, 권도성 등. 대장암에서 Cyclooxygenase-2의 발현. *대한대장항문학회지* 2001;17:259-66.
 21. Sheehan KM, Sheahan K, O'Donoghue DP, MacSweeney F, Conroy RM, Fitzgerald DJ, et al. The relationship between cyclooxygenase-2 expression and colorectal cancer. *JAMA* 1999;282:1254-7.
 22. Shattuck-Brandt RL, Lamps LW, Heppner Goss KJ, DuBois RN, Matrisian LM. Differential expression of matrix metalloproteinase-2 and cyclooxygenase-2 in intestinal and colorectal neoplasms. *Mol Carcinog* 1999;24:177-87.
 23. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-42.