

环氧合酶-2 及其抑制剂与肿瘤多药耐药

张 玲, 陈同钰

(苏州大学附属第三医院病理科, 江苏 常州 213003)

摘要: 肿瘤多药耐药是目前化疗失败的最常见且最难解决的问题, 环氧合酶-2 参与肿瘤的发生发展, 近年来一些研究表明, 环氧合酶-2 与肿瘤多药耐药密切相关, 并且通过多条途径参与肿瘤多药耐药的发生, 该文对环氧合酶-2 及其抑制剂与肿瘤多药耐药的关系做一综述。

关键词: 环氧合酶-2; P 糖蛋白; 肿瘤多药耐药

中图分类号: R979.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0971(2007)03-0177-04

Cyclooxygenase-2 and its inhibitor and multidrug resistance

ZHANG Ling, CHEN Tong-yu

(The Third Affiliated Hospital of Suzhou University, Changzhou 213003, China)

Abstract: At present, multidrug resistance (MDR) is the most common and difficult problem of failure of chemotherapy. Cyclooxygenase-2 (COX-2) participated in the development of tumor. Recently, the study showed that COX-2 was closely related to multidrug resistance of tumors and played an important role in the development of MDR through many paths. In this article the relationship between COX-2 and MDR is reviewed.

Key words: cyclooxygenase-2; P-glycoprotein; multidrug resistance

肿瘤细胞对化疗药物产生耐药性是当今肿瘤治疗的一大难题, 肿瘤多药耐药 (MDR) 是一个有多种机制共同参与的复杂现象。MDR 是指肿瘤细胞在接触一种抗肿瘤药产生耐药性后, 对未接触过的、结构不同、作用机制各异的其他抗肿瘤药物也具有交叉耐药性。MDR 的产生有多种原因, 主要与 *mdr1* 基因编码的 P 糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) 的过度表达有关, P-gp 也是被研究得最为彻底的机制之一, *mdr1* 基因的结构, 表达的调控是肿瘤耐药研究的热点。另外, 肺耐药蛋白 (LRP)、蛋白激酶 C (PKC)、金属硫蛋白 (MT)、多药耐药相关蛋白 (MRP)、各种细胞因子及原癌基因等也参与肿瘤耐药的发生发展。

大量研究表明, 环氧合酶-2 (COX-2) 在肿瘤的发生发展中也发挥重要的作用。最近研究发现, 非甾体类抗炎药 (COX-2 抑制剂) 可以增强化疗药物

的抗癌效果, 减少癌症的危险, 认为 COX-2 与肿瘤多药耐药有相关性, 可能为肿瘤的治疗提供新的靶点。现对 COX-2 与肿瘤多药耐药的关系作一综述。

1 COX-2 基因结构和功能

环氧合酶 (COX) 又称前列腺素内过氧化物合成酶 (PGHS), 是前列腺素 (PG) 合成过程中一个主要的限速酶, 此酶有两种亚型, COX-1 和 COX-2。1993 年, Jones 等^[1] 从上皮细胞 cDNA 库中克隆到 COX-2 蛋白酶, 并证实它是一种不同于 COX-1 的诱导性酶, 用基因克隆技术发现 COX-1 和 COX-2 基因具有不同的结构和生理功能。COX-2 基因位于染色体 1q25.2 ~ 25.3 上, 含有 10 个外显子和 9 个内含子, 外显子约 8.3 kb, 其 mRNA 转录产物为 4.5 kb^[2], 上游 5' 端非翻译区长约 0.8 kb, 含有一些转录调控序列。与 COX-2 启动子转录激活密切相关的顺式作用元件包括 TATA 盒和多个转录因子结合部位 (C/EBP, AP-2, SP1, NF- κ B, CRE, Ets-1, PEA-3 和 GATA-1)^[3]。COX-2 表达的调控主要在转录水

收稿日期: 2006-11-08

作者简介: 张 玲, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 肿瘤多药耐药, Tel: 0519-6180824, E-mail: zhangling19820325@163.com

平上,但也有在翻译水平的调节,在 COX-2 mRNA 的 3'端非翻译区(3'-UTR)有多拷贝的 AUUUA 模序,它控制着 mRNA 的稳定和能否进行翻译,各种因子都可通过与此模序的结合来上调或下调 COX-2 的表达。

COX-2 的基本三维结构二聚体包含 3 个独立折叠单位,即表皮生长因子类似区、膜连接结构区及酶活性结构区^[4]。其主要存在于核膜和微粒体膜中,被认为是“快速反应基因”。在正常情况下,COX-2 在绝大部分组织细胞不表达,但在受到脂多糖^[5]、细胞因子^[6]、生长因子^[7]等刺激后便快速合成,将花生四烯酸(AA)代谢,产生过量 PG,启动炎症反应。它在大多数癌细胞中高表达,但在有些肿瘤细胞中也发现有低表达,如前列腺癌、乳腺癌等。COX-2 可通过调控癌基因表达、抑制肿瘤细胞凋亡、促进肿瘤微血管形成、免疫抑制等途径影响肿瘤的发生和发展过程。

1.1 促进肿瘤新生血管形成

COX-2 促进肿瘤血管生成的机制可概括如下:(1)诱导肿瘤细胞产生 VEGF;Timoshenko 等用人乳腺癌细胞株研究 COX-2 和前列腺素 E(PGE)受体对 VEGF 表达和分泌的作用,发现使用 COX-2 抑制剂后,VEGF 的表达也下调;(2)诱导肿瘤组织产生的 PG 能促进新生血管生成;(3)促使基质金属蛋白酶(MMP)表达:高表达 COX-2 的非小细胞肺癌更易发生转移,与 MMP-2 的表达和激活有关;(4)刺激 Bcl-2 的表达来抑制内皮细胞凋亡,促进血管生成;(5)缺氧诱导 COX-2 促进肿瘤血管的形成。

1.2 刺激肿瘤细胞的增殖

非甾体类抗炎药作用于肿瘤细胞株,能抑制肿瘤细胞增殖、浸润^[8]。COX-2 促进肿瘤细胞增殖的作用是通过其产物 PG 完成的,加入 COX-2 抑制剂,细胞增殖被抑制,再次加入 PG 时,增殖作用又被恢复。

1.3 抑制肿瘤细胞的凋亡

COX-2 的抗凋亡作用可能是由 P-gp 介导的。COX-2 能上调 MDR1 的表达,而用 MDR1 抑制剂能够恢复 TNF α 诱导的凋亡^[9]。

1.4 促进肿瘤的浸润和转移

COX-2 能促进 MMP 的表达,促进肿瘤细胞的浸润和转移^[10]。

1.5 参与肿瘤多药耐药的产生

Sorokin^[11]发现 COX-2 高表达的细胞 mdrl 基因

的表达及活性也明显升高,肿瘤耐药性也增强。临床试验也显示,化疗、放疗和 COX-2 抑制剂联合使用能起到明显的抑瘤效果。

2 MDR 的形成机制及其与 P-gp 的关系

MDR 形成机制复杂。单个 MDR 细胞可同时具有多种耐药性机制,每一机制均可使肿瘤细胞对不同类型的抗肿瘤药物产生 MDR 表型。主要有以下几个方面:(1)药物吸收减少;(2)细胞内药物泵出增多;(3)细胞凋亡的抑制;(4)药物活性作用减弱;(5)细胞解毒作用增强;(6)抗肿瘤药物的代偿性代谢增强;(7)DNA 损伤修复能力增强;(8)靶分子改变。这些机制常同时存在,但以一种为主,且不同机制间常相互影响。其中 P-gp 介导的多药耐药机制是现在研究的热点。

肿瘤多药耐药可分为天然耐药和获得性耐药。其中多是获得性的,许多因素能使 mdrl 基因的表达上调,包括紫外线、热刺激、生长因子和大量的药物等,P-gp 是常见的引起细胞内药物浓度降低的原因,P-gp 是一种由 mdrl 基因编码的具有 ATP 酶活性的跨膜泵,当肿瘤细胞与抗癌药物接触时,脂溶性药物按浓度梯度进入细胞,在细胞内,药物与 P-gp 结合,同时水解 ATP 获得能量,将药物逆浓度梯度从细胞内泵出,细胞内药物浓度不断下降,使药物对细胞的毒性损伤减弱直至消失,最终出现耐药。研究表明,P-gp 位于面向排泄区域的细胞膜上,证明它能排出生理性代谢物和化疗药物,起到解毒作用。

3 COX-2 与肿瘤多药耐药的相关性

研究肝癌的动物模型,用非甾体类抗炎药进行治疗,不论选择性或非选择性的 COX-2 抑制剂,均能增加化疗的敏感性,提高化疗效果^[9]。用 cDNA 微阵列检测发现,过度表达 COX-2 的鼠肾小球膜细胞 mdrl 基因扩增,用 RT-PCR 方法证实了 mdrl mRNA 水平升高,Western 印迹方法发现 P-gp 表达上调,另外 P-gp 活性也上调。Fantappie 等^[12]研究亲代药物敏感性细胞株和耐药细胞株,并用免疫组化、Northern 印迹和 Western 印迹分析 COX-2 和诱生一氧化氮合酶的表达,了解药物和一些因子刺激下肿瘤细胞的增殖情况,发现耐药细胞株中 COX-2 和诱生一氧化氮合酶明显增加,COX-2 抑制剂均能减少两种细胞株中 NO,COX-2 的含量,并能抑制细胞增殖,但抑制增殖的作用仅在 MDR 细胞株中发现,说明

COX-2 可能参与多药耐药的调节。

3.1 COX-2 可能通过 P-gp 参与多药耐药的发生

Ziemann 等^[13]培养鼠肝癌细胞,发现 *mdr1* 呈时间依赖性高表达,而将花生四烯酸、COX-2 的产物 PGE2 和 PGF2 直接加入鼠肝癌细胞培养基中,可明显促进 *mdr1* 的表达产物 P-gp 的增加,从而引起肿瘤耐药。COX-2 与 *mdr1* 呈一致性表达,NF- κ B 能上调 *mdr1* 的表达,增加 P-gp 的含量,与肿瘤多药耐药密切相关^[14],也能与 COX-2 顺式作用元件中 NF- κ B 结合位点结合,增加 COX-2 的表达。COX-2 与 P-gp 具有相关性,许多刺激因子对 COX-2 和 P-gp 的调节表现出一致性,如上皮生长因子,转化生长因子 β 等促进 *mdr1* 的表达,而这些因子也能增加 COX-2 的表达。P-gp 和 Bcl-x1 可诱导胃癌和化疗耐药的发生,而它们与幽门螺旋杆菌引起的 COX-2 的表达密切相关^[15],但 COX-2 如何调节 P-gp 的表达仍需进一步的研究。

3.2 COX-2 可能参与 Bcl-2 通路的调节

COX-2 可通过增强 Bcl-2 介导通路,抑制肿瘤细胞凋亡。Huang 等^[16]用 NS-398 (COX-2 抑制剂) 作用于人类肝癌细胞株,DNA 倍数分析显示,处于 S 期的肿瘤细胞明显减少,Western 印迹检测发现大多数肿瘤细胞株中 Bcl-2 的表达减少,而 Bcl-2 mRNA 减少的细胞大多处于静止期,肿瘤细胞增殖受抑制,凋亡增加。Bcl-2 基因家族能改变肿瘤对化疗药物的敏感性,一些过量表达 Bcl-2 或 Bcl-x1 的细胞同时也普遍表达 *mdr1* 基因产物 P-gp。Nishii 等研究证明,各类型的白血病细胞对化疗药物易感性的差别来源于 Bcl-2 表达水平的不同,并通过 IL-6, G-CSF, 糖皮质激素,地塞米松诱导分化使 Bcl-2 下调来提高化疗的敏感性。

3.3 COX-2 还可能通过神经酰胺通路抑制肿瘤细胞凋亡

用 Fumonisin B1 阻断神经酰胺的合成可逆转紫杉醇和柔红霉素升高细胞内神经酰胺水平及诱导凋亡的作用^[17]。非甾体类抗炎药作用于结肠癌细胞,可引起花生四烯酸的堆积,进而激活中性神经磷脂酶,导致大量神经酰胺的产生,神经酰胺是众所周知的死亡信号,从而促进肿瘤细胞死亡。而 COX-2 可以激活葡萄糖神经酰胺合成酶(GCS),催化神经酰胺糖基化为无毒产物,抑制细胞凋亡,促进 MDR 的发生。

3.4 COX-2 可通过突变型 p53 来发挥耐药作用

用组织微阵列法研究胃癌组织及癌旁组织发现,p53 阴性组织中 COX-2 也阴性表达。而野生型 p53 与肿瘤多药耐药密切相关,用野生型 p53 基因转染人肝癌细胞株 Bel-7402,其对长春新碱的敏感性增高,且能显著下调 *mdr1* 的表达,增加化疗敏感性^[18]。研究证实,p53 基因突变的肿瘤细胞凋亡减少,从而产生耐药性,而导入外源野生型 p53 基因后能增强化疗药物 5-FU 的细胞毒性作用。

3.5 COX-2 可能通过 MRP 参与多药耐药

Kang 等^[19]发现在人肺腺癌细胞株 A549 中 COX-2 与 MRP1 同时高表达,且用 COX-2 抑制剂塞来昔布作用于 A549,发现 COX-2 抑制剂可以下调 MRP1 的表达,并能增加多柔比星在肿瘤细胞中的积累和细胞毒性,增加化疗的敏感性。可是在人肺癌细胞株 H460 中,表达小剂量的 COX-2 并不能引起 MRP1 的高表达,外源性 PGE 的加入也不能恢复 MRP1 的表达。所以 COX-2 是否通过 MRP1 参与肿瘤多药耐药仍需进一步的研究。

4 结语

COX-2 通过各种途径参与肿瘤多药耐药的发生,大量研究主要针对 P-gp,但也有不少研究证明其他途径的存在,所以主要通过哪条途径产生作用仍不十分清楚,但 COX-2 抑制剂与化疗药物联合使用为临床化疗效果的提高提供了新的前景,COX-2 也有望成为新一代的耐药指标,协助临床诊断与治疗。

参 考 文 献

- [1] Jones DA, Carlton DP, McIntyre TM, et al. Molecular cloning of human prostaglandin endoperoxide synthase type II and demonstration of expression in response to cytokines[J]. *J Biol Chem*, 1993, 268(12): 9054 - 9094.
- [2] Tay A, Squire JA, Goldberg H, et al. Assignment of the human prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2) gene to 1q25 by fluorescence *in situ* hybridization[J]. *Genomics*, 1994, 23(3): 718 - 719.
- [3] Tazawa R, Xu XM, Wu KK, et al. Characterization of the genomic structure, chromosomal location and promoter of human prostaglandin H synthase-2 gene[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994, 203(1): 190 - 199.
- [4] Cervello M, Montalto G. Cyclooxygenases in hepatocellular carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(32): 5113 - 5121.
- [5] Grkovich A, Johnson CA, Buczynski MW, et al. Lipopolysaccharide induced cyclooxygenase-2 expression in human U937 macrophages is phosphatidic acid phosphohydrolase-1 dependent[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(44): 32978 - 32987.

- [6] Hirsch E, Filipovich Y, Mahendroo M, *et al.* Signaling via the type I IL-1 and TNF receptors is necessary for bacterially induced preterm labor in a murine model [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2006, 194(5):1334 – 1340.
- [7] Tammali R, Ramana KV, Singhal SS, *et al.* Aldose reductase regulates growth factor-induced cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin e2 production in human colon cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(19):9705 – 9713.
- [8] de Groot DJ, de Vries EG, Groen HJ, *et al.* Non-steroidal anti-inflammatory drugs to potentiate chemotherapy effects; from lab to clinic [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2007, 61(1):52 – 69.
- [9] Patel VA, Dunn MJ, Sorokin A, *et al.* Regulation of MDR-1 (P-glycoprotein) by cyclooxygenase-2 [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(41):38915 – 38920.
- [10] Spinella F, Rosano L, Di Castro V, *et al.* Endothelin-1 and endothelin-3 promote invasive behavior via hypoxia-inducible factor-1 α in human melanoma cells [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(4):1725 – 1734.
- [11] Sorokin A. Cyclooxygenase-2: potential role in regulation of drug efflux and multidrug resistance phenotype [J]. *Curr Pharm Des*, 2004, 10(6):647 – 657.
- [12] Fantappie O, Masini E, Sardi I, *et al.* The MDR phenotype is associated with the expression of COX-2 and iNOS in a human hepatocellular carcinoma cell line [J]. *Hepatology*, 2002, 35(4):843 – 852.
- [13] Ziemann C, Schafer D, Rudell G, *et al.* The cyclooxygenase system participates in functional mdr1b overexpression in primary rat hepatocyte cultures [J]. *Hepatology*, 2002, 35(3):579 – 588.
- [14] McCarty MF, Block KI. Preadministration of high-dose salicylates, suppressors of NF-kappaB activation, may increase the chemosensitivity of many cancers; an example of proapoptotic signal modulation therapy [J]. *Integr Cancer Ther*, 2006, 5(3):252 – 268.
- [15] Nardone G, Rocco A, Vaira D, *et al.* Expression of COX-2, mPGE-synthase 1, MDR-1 (P-gp), and Bcl-xL; a molecular pathway of H pylori-related gastric carcinogenesis [J]. *J Pathol*, 2004, 202(3):305 – 312.
- [16] Huang DS, Shen KZ, Wei JF, *et al.* Specific COX-2 inhibitor NS398 induces apoptosis in human liver cancer cell line HepG2 through BCL-2 [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(2):204 – 207.
- [17] Charles AG, Han TY, Liu YY, *et al.* Taxol-induced ceramide generation and apoptosis in human breast cancer cells [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2001, 47(5):444 – 450.
- [18] Gai XD, Li GL, Huang JZ, *et al.* Reversal of multidrug resistance of human hepatocellular carcinoma cells by wild-type p53 gene and related mechanisms [J]. *Ai Zheng*, 2006, 25(8):954 – 959.
- [19] Kang HK, Lee E, Pyo H, *et al.* Cyclooxygenase-independent down-regulation of multidrug resistance-associated protein-1 expression by celecoxib in human lung cancer cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4(9):1358 – 1363
- (上接第 176 页)
- [13] Zou Y, Ling YH, Reddy S, *et al.* Effects of vesicle size and lipid composition on the *in vivo* tumor selectivity and toxicity of the non-cross-resistant anthracycline annamycin incorporated in liposomes [J]. *Int J Cancer*, 1995, 61(5):666 – 671.
- [14] Parr MJ, Masin D, Cullis PR, *et al.* Accumulation of liposomal lipid and encapsulated doxorubicin in murine Lewis lung carcinoma; the lack of beneficial effects by coating liposomes with poly(ethylene glycol) [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1997, 280(3):1319 – 1327.
- [15] Charrois GJ, Allen TM. Rate of biodistribution of STEALTH liposomes to tumor and skin; influence of liposome diameter and implications for toxicity and therapeutic activity [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1609(1):102 – 108.
- [16] Weissig V, Whiteman KR, Torchilin VP. Accumulation of protein-loaded long-circulating micelles and liposomes in subcutaneous Lewis lung carcinoma in mice [J]. *Pharm Res*, 1998, 15(10):1552 – 1556.
- [17] Yuan F, Leuning M, Huang SK, *et al.* Microvascular permeability and interstitial penetration of sterically stabilized (Stealth) liposomes in a human tumor xenograft [J]. *Cancer Res*, 1994, 54(13):3352 – 3356.
- [18] Wu NZ, Da D, Rudoll TL. Increased microvascular permeability contributed to preferential accumulation of Stealth liposomes in tumor tissue [J]. *Cancer Res*, 1993, 53(16):3765 – 3770.
- [19] Daemen T, Velinova M, Regts J, *et al.* Different intrahepatic distribution of phosphatidylglycerol and phosphatidylserine liposomes in the rat [J]. *Hepatology*, 1997, 26(2):416 – 423.
- [20] Mayer LD, Tai LC, Ko DS, *et al.* Influence of vesicle size, lipid composition, and drug-to-lipid ratio on the biological activity of liposomal doxorubicin in mice [J]. *Cancer Res*, 1989, 49(21):5922 – 5930.
- [21] Hobbs SK, Monsky WL, Yuan F, *et al.* Regulation of transport pathways in tumor vessels; role of tumor type and microenvironment [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(8):4607 – 4612.
- [22] Hashizume H, Baluk P, Morikawa S, *et al.* Openings between defective endothelial cells explain tumor vessel leakiness [J]. *Am J Pathol*, 2000, 156(4):1363 – 1380.
- [23] Oku N, Tokudome Y, Tsukada H, *et al.* Real-time analysis of liposomal trafficking in tumor-bearing mice by use of positron emission tomography [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1238(1):86 – 90.