

美洛昔康对结肠癌细胞VEGF和angiopoietin-2表达的影响

陶凯雄, 张宁, 王国斌, 吴相柏

陶凯雄, 张宁, 王国斌, 吴相柏, 华中科技大学同济医学院附属协和医院腹腔镜外科中心 湖北省武汉市 430022
陶凯雄, 医学博士, 外科学副教授、副主任医师, 硕士研究生导师, 华中科技大学同济医学院附属协和医院腹腔镜外科中心副主任, 主要从事消化道恶性肿瘤的靶向诊治以及微创治疗。
国家863计划, No. 2001AA22218051
湖北省科技攻关计划, No. 2005AA304B09
通讯作者: 陶凯雄, 430022, 华中科技大学同济医学院附属协和医院腹腔镜外科中心. kaixgtao@public.wh.hb.cn
电话: 027-85726405 传真: 027-85756343
收稿日期: 2006-01-26 接受日期: 2006-03-20

Effects of meloxicam on vascular endothelial growth factor and angiopoietin-2 expression in colon carcinoma cell line HT-29

Kai-Xiong Tao, Ning Zhang, Guo-Bin Wang, Xiang-Bai Wu

Kai-Xiong Tao, Ning Zhang, Guo-Bin Wang, Xiang-Bai Wu, Department of General Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Supported by the National High Technology Research and Development Program of China, No. 2001AA22218051, and the Key Science and Technology Research and Development Program of Hubei Province, No. 2005AA304B09
Correspondence to: Kai-Xiong Tao, Department of General Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China. kaixgtao@public.wh.hb.cn
Received: 2006-01-26 Accepted: 2006-03-20

Abstract

AIM: To investigate the effect of meloxicam, a nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID), on the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and angiopoietin-2 (Ang-2) in colon carcinoma cell line HT-29.

METHODS: The cultured HT-29 cells were treated with different concentrations of meloxicam (100, 200, 400, 800 $\mu\text{mol/L}$) for different time. The proliferation of HT-29 cells was detected by Cell Counting Kit 8 (CCK8). Cell cycle was detected by flow cytometry. The levels of VEGF and Ang-2 protein in the supernatants were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and the expression of VEGF and Ang-2 mRNA in HT-29 cells were examined

by real-time quantitative reverse-transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR).

RESULTS: Meloxicam inhibited the proliferation of HT-29 cells in a concentration- and time-dependent manner ($P = 0.000 \rightarrow 0.029$; $0.000 \rightarrow 0.043$), and the proliferating activity was decreased with the increase of concentration and prolonging of action time. Meloxicam changed the cycles of HT-29 cells in a concentration-dependent manner, and the number of cells at G_0/G_1 phase was significantly increased ($P = 0.000 \rightarrow 0.015$). The levels of VEGF and Ang-2 protein in supernatants were reduced gradually with the increase of concentration or action time ($P = 0.000 \rightarrow 0.018$; $0.000 \rightarrow 0.028$). The expression of COX-2, VEGF and Ang-2 mRNA were also reduced with the increase of Meloxicam concentration ($P = 0.000 \rightarrow 0.025$).

CONCLUSION: Meloxicam can reduce the expression of VEGF and Ang-2 at the levels of protein and mRNA in colon carcinoma cell line.

Key Words: Meloxicam; Colon carcinoma cell line; Vascular endothelial growth factor; Angiopoietin-2

Tao KX, Zhang N, Wang GB, Wu XB. Effects of meloxicam on vascular endothelial growth factor and angiopoietin-2 expression in colon carcinoma cell line HT-29. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(13):1277-1282

摘要

目的: 研究COX-2选择性抑制剂美洛昔康(meloxicam)对结肠癌细胞HT-29生长及血管内皮生长因子(VEGF)和血管生成素-2(angiopoietin-2, Ang-2)表达的影响。

方法: 分别用100, 200, 400, 800 $\mu\text{mol/L}$ 美洛昔康对细胞进行干预后, 采用CCK-8活细胞计数法检测细胞增殖, 流式细胞术检测细胞周期, ELISA测定细胞培养上清液中VEGF, Ang-2的蛋白含量, 实时荧光定量PCR检测细胞COX-2, VEGF, Ang-2 mRNA含量。

结果: 美洛昔康作用不同时间后, 对HT-29细胞具有细胞毒作用, 细胞增殖活性随浓度增

背景资料

大肠癌是人类最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率呈逐年增高的趋势, COX-2被认为与大肠癌的早期发病及发生、发展, 包括肿瘤血管生成有密切关系。随着对大肠癌发病机制从细胞、分子水平上的进一步认识, 一些针对肿瘤的靶点药物不断出现, COX-2选择性抑制剂即为其中之一。VEGF和Ang-2可以特异性作用于血管内皮细胞, 目前对于COX-2和VEGF关系的研究相对较多, 而与Ang-2关系研究相对较少。

■ 研发前沿

目前在对大肠癌的研究中,分子靶向治疗已成为人们关注的热点.大致可分为:以肿瘤区域新生血管为靶向的治疗,以肿瘤细胞为靶向的治疗,信号传导抑制剂(COX-2选择性抑制剂属于其中之一)及其他如以RAS蛋白、Raf激酶、基质金属蛋白酶、p53等为靶点的靶向治疗.

加、时间延长逐渐降低(P 值: 0.000→0.029; 0.000→0.043), 呈现量-效、时-效关系. 并且美洛昔康呈浓度依赖性改变细胞周期分布, G_0/G_1 期细胞比例增加(P 值: 0.000→0.015). 上清液中VEGF和Ang-2蛋白含量明显降低, 存在时间和浓度依赖性(P 值: 0.000→0.018; 0.000→0.028). 细胞COX-2, VEGF和Ang-2 mRNA表达亦明显降低(P 值: 0.000→0.025), 也存在浓度依赖性.

结论: 美洛昔康能够在蛋白、核酸水平上抑制结肠癌细胞分泌VEGF和Ang-2, 从而抑制肿瘤血管生成.

关键词: 美洛昔康; 结肠癌; 环氧合酶2; 血管内皮生长因子; 血管生成素-2

陶凯雄, 张宁, 王国斌, 吴相柏. 美洛昔康对结肠癌细胞VEGF和angiopoietin-2表达的影响. 世界华人消化杂志 2006;14(13):1277-1282

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/1277.asp>

0 引言

环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)与多种肿瘤的发生、发展密切相关, 研究发现COX-2抑制剂可抑制肿瘤血管生成及肿瘤的生长, 但其机制尚不完全清楚. 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及血管生成素2(angiopoietin-2, Ang-2)可特异性作用于血管内皮细胞, 在血管生成及维持血管平衡中起重要作用. 我们在细胞水平检测COX-2选择性抑制剂美洛昔康(meloxicam)对结肠癌细胞VEGF和Ang-2表达的影响, 以探讨其抗肿瘤的作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 人结肠癌细胞系HT-29由本院普外实验室保存. 美洛昔康由中南民族大学梅之南博士惠赠, 二甲基亚砷(DMSO)助溶, 终末浓度 ≤ 10 g/L; DMEM、DMEM+F₁₂培养基、小牛血清、DMSO及胰酶购自GIBCO公司. 活细胞计数试剂盒CCK-8(Cell Counting Kit-8)购自Kumamoto Techno Research Park公司. 人VEGF及Ang-2 ELISA试剂盒为R&D公司产品. Trizol试剂盒、Taq酶、dNTPs购自Promega公司, 引物及荧光探针由PRIMER5.0软件设计、上海Invitrogen公司合成. COX-2上游引物5'-GAGGTGTATGTATGAGTGTGG-3', 下游引物5'-CCCTTGAAGTGGGTAA GTATG-3', 相应Taq MAN探针序列5'-FAM-

TATTTCTGAAACCCACTCCAAACAC-TAMRA-3'; VEGF上游引物5'-TTCTGGGCTGTTCTCGCTTCG-3', 下游引物5'-CCCCTCTCTCTTCCTTCTCT-3', 相应Taq MAN探针序列5'-FAM-GCTGTTCTCGCTTCGGAGGAGCC-TAMRA-3'; Ang-2上游引物5'-CAGATTGTTTCTTTACTTC-3', 下游引物5'-CTGATATTGCTTCTTTCCTA-3', 相应Taq MAN探针序列5'-FAM-CTTGCCGCAGCCTATAACAACCT-TAMRA-3'; β -actin上游引物5'-ACCACAGCTGAGAGGGAA-3', 下游引物5'-GCTCGAAGTCTAGGGCAA-3', 相应Taq MAN探针序列5'-FAM-CGTGACATTAAGAGAAGCTGTGCT-TAMRA-3'.

1.2 方法 结肠癌细胞株HT-29, 用含10 mL/L小牛血清的DMEM培养基, 置37°C 5 mL/L CO₂孵育箱中常规培养. 常规消化处于对数生长期的贴壁细胞, 进行细胞增殖活性测定时, 以 1.0×10^4 个/孔的细胞密度接种到96孔培养板中; 进行细胞周期检测、药物干预后细胞VEGF和Ang-2蛋白含量检测及细胞COX-2, VEGF, Ang-2 mRNA表达检测时, 以 4.0×10^5 个/孔的细胞密度接种于6孔板; 细胞贴壁后换用含不同终浓度美洛昔康的DMEM+F₁₂培养液继续培养. 设置空白孔, 无细胞为阴性对照, 无药物作用的细胞为阳性对照. 将HT-29细胞分为对照组(培养液+细胞)和实验组(培养液+细胞+不同终浓度美洛昔康), 实验组中美洛昔康终浓度为100, 200, 400, 800 μ mol/L, 培养24, 48及72 h.

1.2.1 HT-29细胞增殖活性的检测 用CCK-8试剂检测细胞增殖活性, 每孔加入CCK-8 10 μ L, 孵育4 h后, 以空白孔调零, 全自动酶标仪于450 nm处测定吸光度A值, 参比波长为650 nm. 抑制率(%) = (1-实验组平均A值/对照组平均A值) \times 100%.

1.2.2 流式细胞术检测细胞周期 实验组与对照组经药物作用48 h后, 收集制成 1.0×10^8 个细胞/L的单细胞悬液, 4°C预冷的700 mL/L乙醇固定, PI染色, 上流式细胞仪进行细胞周期分析.

1.2.3 HT-29细胞VEGF和Ang-2蛋白表达检测 实验组经药物作用不同时间后, 收集培养上清液, 按ELISA试剂盒说明书进行操作. 以空白孔调零, 全自动酶标仪于450 nm处测定吸光度A值.

1.2.4 HT-29细胞COX-2, VEGF, Ang-2 mRNA表达检测 实验组与对照组经药物作用48 h后, 分别从各孔获取 1.0×10^5 个细胞, 抽提总RNA, 反

表 1 美洛昔康作用后HT-29细胞增殖活性和周期 (mean ± SD)

分组	细胞增殖活性 A_{450}			细胞周期 (%)		
	24 h	48 h	72 h	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
对照组	1.79 ± 0.13	1.94 ± 0.13	2.21 ± 0.20	54.5 ± 0.7	16.0 ± 0.5	29.5 ± 0.4
100 μmol/L	1.78 ± 0.07	1.40 ± 0.37 ^{ae}	0.98 ± 0.10 ^{ae}	75.4 ± 1.4 ^a	11.1 ± 1.0	13.5 ± 0.7
200 μmol/L	1.56 ± 0.40	1.24 ± 0.22 ^a	0.78 ± 0.09 ^{abef}	76.7 ± 0.8 ^a	9.5 ± 0.8	13.8 ± 1.0
400 μmol/L	1.32 ± 0.37 ^{ab}	0.82 ± 0.22 ^{abce}	0.47 ± 0.11 ^{abce}	81.0 ± 1.6 ^{abc}	7.2 ± 1.3	11.9 ± 0.4
800 μmol/L	0.94 ± 0.14 ^{abc}	0.67 ± 0.07 ^{abce}	0.25 ± 0.03 ^{abcdef}	83.8 ± 1.3 ^{abcd}	9.4 ± 1.2	6.6 ± 0.6

^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^b $P < 0.05$ vs 100 μmol/L; ^c $P < 0.05$ vs 200 μmol/L; ^d $P < 0.05$ vs 400 μmol/L; ^e $P < 0.05$ vs 24 h; ^f $P < 0.05$ vs 48 h.

表 2 美洛昔康作用后HT-29细胞VEGF和Ang-2蛋白含量 (ng/L, mean ± SD)

分组	VEGF			Ang-2		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
对照组	1730 ± 40	1933 ± 40	1981 ± 18	2210 ± 130	2467 ± 137	2646 ± 93
100 μmol/L	1660 ± 10	1038 ± 61 ^{ae}	541 ± 9 ^{ae}	2187 ± 65	1585 ± 43 ^{ae}	793 ± 20 ^{ae}
200 μmol/L	1597 ± 26 ^a	893 ± 9 ^{abe}	509 ± 10 ^{abef}	2123 ± 45	1203 ± 92 ^{abe}	749 ± 30 ^{abef}
400 μmol/L	1502 ± 26 ^{abc}	742 ± 9 ^{abce}	350 ± 14 ^{abcdf}	1950 ± 46 ^{abc}	1024 ± 35 ^{abce}	531 ± 20 ^{abcdf}
800 μmol/L	1147 ± 74 ^{abcd}	567 ± 10 ^{abcde}	266 ± 12 ^{abcdf}	1834 ± 94 ^{abc}	814 ± 20 ^{abcde}	423 ± 18 ^{abcdf}

^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^b $P < 0.05$ vs 100 μmol/L; ^c $P < 0.05$ vs 200 μmol/L; ^d $P < 0.05$ vs 400 μmol/L; ^e $P < 0.05$ vs 24 h; ^f $P < 0.05$ vs 48 h.

转录后, 分别同时对COX-2, VEGF, Ang-2及内参照β-actin进行实时荧光定量PCR扩增, 退火过程中搜集荧光信号, 每次扩增的同时设置无cDNA的阴性对照. 扩增结果采用FTC-2000型实时荧光定量PCR仪自带分析软件分析Ct(Cycle threshold)值, 并计算相应ΔΔCt值.

统计学处理 数据用mean ± SD表示, 应用SPSS 11.0统计分析软件, 进行One-way ANOVA方差分析, LSD法及S-N-K检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$.

2 结果

2.1 HT-29细胞增殖活性 细胞经药物作用后, 增殖活性降低. 同时相48, 72 h组中, 各实验组细胞增殖活性与对照组比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$); 且当药物作用72 h后, 随浓度升高, 各浓度间进行比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$). 此外在同浓度为100或800 μmol/L时, 各时相间进行比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$, 表1).

2.2 HT-29细胞周期 流式细胞仪检测显示, 药物作用48 h后, 呈浓度依赖性改变细胞周期的分布, G₀/G₁期细胞比例增加($P < 0.05$), S期和G₂/M期细胞比例降低(表1).

2.3 HT-29细胞VEGF和Ang-2蛋白表达 同时相

48, 72 h组中, VEGF和Ang-2蛋白表达含量随药物作用浓度升高而降低. 各浓度组与对照组比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 各浓度间进行比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$). 同浓度各时相组比较, VEGF和Ang-2蛋白含量随作用时间延长, 表达降低, 差异有显著性意义($P < 0.05$, 表2).

2.4 HT-29细胞COX-2, VEGF和Ang-2 mRNA的表达 COX-2, VEGF和Ang-2 mRNA表达随药物作用浓度升高而降低. 各浓度组与对照组比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$); 各浓度间进行比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$, 表3).

3 讨论

肿瘤血管生成(tumor angiogenesis, TA)是指肿瘤细胞诱导的毛细血管生长及肿瘤血液循环建立的过程, 是实体肿瘤生长、侵袭、扩散转移的关键, 受多种促血管生成因子及抑制因子的作用, 并有多种酶、细胞黏附分子的参与. 其中VEGF和Angs可特异性作用于血管内皮细胞. VEGF作为诱导血管生成的重要因子, 主要通过两种酪氨酸激酶受体VEGFR-1和VEGFR-2高度特异性结合, 使受体自身磷酸化而激活细胞内信号传导通路, 实现生物学效应, 如诱导内皮细胞增殖、迁移, 调节内皮细胞整合素、组织

■应用要点

本研究采用COX-2选择性抑制剂美洛昔康, 观察其作用于结肠癌细胞HT-29后, 对细胞VEGF及Ang-2表达的影响, 探讨其抑制肿瘤血管形成的作用机制. 为临床上合理、安全、有效的应用COX-2选择性抑制剂来预防和治疗肿瘤提供一定的依据.

表 3 美洛西康作用于HT-29细胞VEGF和Ang-2 mRNA含量 ($\Delta \Delta$ Ct值, mean \pm SD)

分组	COX-2	VEGF	Ang-2
对照组	-0.784 \pm 0.285	-5.168 \pm 0.213	-6.90 \pm 0.088
100 μ mol/L	-2.099 \pm 0.446 ^a	-9.226 \pm 0.541 ^a	-14.779 \pm 0.456 ^a
200 μ mol/L	-2.710 \pm 0.138 ^{ab}	-12.285 \pm 0.278 ^{ab}	-17.417 \pm 0.249 ^{ab}
400 μ mol/L	-3.840 \pm 0.324 ^{abc}	-15.530 \pm 0.236 ^{abc}	-20.058 \pm 0.360 ^{abc}
800 μ mol/L	-6.214 \pm 0.479 ^{abcd}	-22.708 \pm 0.267 ^{abcd}	-21.135 \pm 0.165 ^{abcd}

^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^b $P < 0.05$ vs 100 μ mol/L; ^c $P < 0.05$ vs 200 μ mol/L; ^d $P < 0.05$ vs 400 μ mol/L.

型纤维蛋白溶酶原激活因子、尿激酶型纤维蛋白溶酶原激活因子、纤溶酶原激活抑制因子以及间质胶原酶在内的多种蛋白酶激活因子的表达,促进胞外基质降解,增加微血管通透性,加速血浆蛋白外渗,最终导致新的基质及新生血管腔形成^[1-3]. Angs家族有Ang-1, Ang-2, Ang-3, Ang-4四位成员,所起作用各自不同,其受体Tie-1, Tie-2的功能也有差异. Ang-1通过激活受体酪氨酸激酶Tie-2发挥如下功能: (1)抑制内皮细胞凋亡,促进内皮细胞生长; (2)促进内皮细胞出芽,迁移,化学趋化^[4]; (3)稳定血管防止渗漏等作用^[5-6]. Ang-2不能使Tie-2受体激活,其功能主要通过竞争性抑制Ang-1与Tie-2结合,从而抑制管壁周围细胞聚集,使血管壁的可塑性增加,并在VEGF的共同作用下,通过促进PAF等炎症因子的产生及下调细胞黏附分子PECAM-1和VE-Adherin的表达^[7],从而形成不稳定渗漏性血管. 研究还发现在肿瘤发展的不同阶段, VEGF和Ang-2的浓度处于动态平衡^[8-10],并存在相互协同作用,表现为在肿瘤组织血管消退早期,通过Ang-2的上调表达,拮抗Ang-1维持内皮细胞稳定性的作用,导致内皮细胞凋亡而出现肿瘤血管破坏,肿瘤细胞因缺血、缺氧而坏死;在缺氧环境下,肿瘤细胞分泌更多的VEGF和Ang-2,并使Ang-2在VEGF存在的协同下,促进坏死肿瘤周围新生血管形成.

环氧合酶(cyclooxygenase, COX)是催化花生四烯酸转化为前列腺素(prostaglandin, PG)的限速酶,有两种异构酶, COX-1和COX-2. COX-2为诱导性酶,可被多种血管内外激活物,如细胞因子、生长因子、肿瘤促进剂等诱导产生^[11],在炎症、组织损伤、肿瘤发生、发展过程中表达增加^[12]. 由于PG参与体内的许多生理和病理过程,高水平的PG对多种癌细胞的增殖、侵袭及转移具有促进作用,因此环氧合酶被认为在结直肠癌的早期发病及进展中发挥重要作用^[13-14].

近年的研究表明, COX-2可以促进结肠癌细胞诱导血管生长因子, Tomozawa *et al*^[15]研究发现COX-2在结肠肿瘤诱导新生血管和远端转移的过程中发挥重要作用,这种作用可被COX-2特异性抑制剂所抑制; Tsujii *et al*^[16]应用内皮细胞和结肠癌细胞体外共培养的方法发现, COX-2过表达细胞产生PGs,并可刺激血管内皮细胞迁移和体外血管生成; Williams *et al*^[17]则发现,缺乏COX-2表达的小鼠也缺乏VEGF的表达,会减少肿瘤血管形成和减缓肿瘤生长, COX-2抑制剂可通过减少肿瘤细胞VEGF的产生来防止VEGF诱导的内皮细胞MAPK(促分裂原活化蛋白激酶)途径的活化.

COX-2不仅在肿瘤细胞内,而且在肿瘤组织中的新生血管内皮细胞强烈表达,对大量临床肿瘤标本的研究发现, COX-2与肿瘤血管生成密切相关,在结肠癌^[18]、胃癌^[19]、胰腺癌^[20]、食管癌^[21]、肝癌^[22]、肺癌^[23]、膀胱癌^[24]、乳腺癌^[25]、卵巢癌^[26]和头颈部恶性肿瘤^[27]等均存在与COX-2表达相关的VEGF高表达和/或肿瘤微血管密度(MVD)的增加及不良预后;运用COX-2选择性抑制剂可显著抑制肿瘤组织的血管生成. 在肿瘤血管形成的过程中, COX-2首先诱导肿瘤细胞,单核巨噬细胞等产生以VEGF为主的促血管生成因子,促进肿瘤血管生成^[28];其次,肿瘤组织产生的PGE₂、PGF₂及TXA₂等直接或间接促进血管生成,加之PGE₂可以增加血管通透性及已形成血管的血流量,可进一步促进血管生成;此外, Leung *et al*^[29]认为花生四烯酸有诱导细胞凋亡的作用,通过抑制磷脂酶A₂的活性,减少花生四烯酸的生成可抑制凋亡^[30],而内皮细胞内表达的COX-2也可通过抑制花生四烯酸的积聚,从而抑制内皮细胞的凋亡,促进血管生成;另外,肿瘤细胞迅速生长,使肿瘤处于相对缺氧的状态,缺氧诱导COX-2的产生,进而诱导肿瘤细胞表达VEGF,促进肿瘤血管新生,从而缓解肿瘤细胞

的缺氧状态以维持肿瘤生长。COX-2与血管生成因子之间的相互调节机制必然会影响到肿瘤血管生成的病理过程。

我们发现选择性COX-2抑制剂美洛昔康作用于HT-29细胞后, 细胞增殖活性随作用浓度增加、作用时间延长逐渐降低。但只在作用时间达48及72 h时, 各实验组细胞增殖活性与对照组比较, 差异才均有显著性意义($P<0.05$); 在药物作用72 h后, 存在浓度依赖性; 且在低浓度100 $\mu\text{mol/L}$ 和高浓度800 $\mu\text{mol/L}$ 时, 存在时间依赖性。提示本实验所用浓度的美洛昔康可对HT-29细胞产生细胞毒性作用, 但仅在一定程度上表现出量-效、时-效关系, 这可能与不同的COX-2抑制剂对COX-2的结合力不同、不同肿瘤细胞体外培养生长具有相对特异性有关。不同浓度美洛昔康作用于HT-29细胞48 h后, 呈浓度依赖性改变细胞周期的分布, G_0/G_1 期细胞比例增加, S期和 G_2/M 期细胞比例降低, 将细胞阻滞在 G_0/G_1 期。不同浓度美洛昔康作用不同时间后, 细胞培养上清液中VEGF和Ang-2蛋白含量表达明显降低, 具有较好的时间依赖性和浓度依赖性。随美洛昔康作用浓度升高, 细胞COX-2、VEGF和Ang-2 mRNA表达明显降低, 亦存在浓度依赖性。提示: 美洛昔康作为一种选择性COX-2抑制剂, 可通过COX-2依赖途径在蛋白、核酸水平上抑制结肠癌细胞分泌VEGF和Ang-2, 从而抑制肿瘤血管生成。

NSAIDs是一类以抑制COX而抑制前列腺素(PG)合成为共同作用基础的不同药物的总称。近20 a来的研究表明: 其具有明确的抑制胃肠道肿瘤形成和生长的作用, 可通过下调肿瘤相关血管因子的表达, 减少COX-2产物 PGE_2 的合成、降低成纤维细胞的有丝分裂, 从而实现抑制肿瘤内血管形成的作用^[31]。选择性COX-2抑制剂在抑制肿瘤重要相关酶COX-2的同时, 对正常表达的COX-1没有影响, 避免了因保护性PG产生减少, 胃肠道黏膜破坏和出血情况的发生。随着COX-2抑制剂抗肿瘤作用机制的进一步研究, 及NSAIDs相关衍生物的开发, 其临床应用将具有更好的合理性、有效性和安全性。

4 参考文献

- 1 McColl BK, Baldwin ME, Roufail S, Freeman C, Moritz RL, Simpson RJ, Alitalo K, Stacker SA, Achen MG. Plasmin activates the lymphangiogenic growth factors VEGF-C and VEGF-D. *J Exp Med* 2003; 198: 863-868
- 2 Poltorak Z, Cohen T, Sivan R, Kandelis Y, Spira

- G, Vlodavsky I, Keshet E, Neufeld G. VEGF145, a secreted vascular endothelial growth factor isoform that binds to extracellular matrix. *J Biol Chem* 1997; 272: 7151-7158
- 3 Joukov V, Sorsa T, Kumar V, Jeltsch M, Claesson-Welsh L, Cao Y, Saksela O, Kalkkinen N, Alitalo K. Proteolytic processing regulates receptor specificity and activity of VEGF-C. *EMBO J* 1997; 16: 3898-3911
- 4 Saito M, Hamasaki M, Shibuya M. Induction of tube formation by angiopoietin-1 in endothelial cell/fibroblast co-culture is dependent on endogenous VEGF. *Cancer Sci* 2003; 94: 782-790
- 5 Thurston G, Suri C, Smith K, McClain J, Sato TN, Yancopoulos GD, McDonald DM. Leakage-resistant blood vessels in mice transgenically overexpressing angiopoietin-1. *Science* 1999; 286: 2511-2514
- 6 Thurston G, Rudge JS, Ioffe E, Zhou H, Ross L, Croll SD, Glazer N, Holash J, McDonald DM, Yancopoulos GD. Angiopoietin-1 protects the adult vasculature against plasma leakage. *Nat Med* 2000; 6: 460-463
- 7 Ahmad SA, Liu W, Jung YD, Fan F, Reinmuth N, Bucana CD, Ellis LM. Differential expression of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 in colon carcinoma. A possible mechanism for the initiation of angiogenesis. *Cancer* 2001; 92: 1138-1143
- 8 Holash J, Maisonpierre PC, Compton D, Boland P, Alexander CR, Zagzag D, Yancopoulos GD, Wiegand SJ. Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF. *Science* 1999; 284: 1994-1998
- 9 Holash J, Wiegand SJ, Yancopoulos GD. New model of tumor angiogenesis: dynamic balance between vessel regression and growth mediated by angiopoietins and VEGF. *Oncogene* 1999; 18: 5356-5362
- 10 Lobov IB, Brooks PC, Lang RA. Angiopoietin-2 displays VEGF-dependent modulation of capillary structure and endothelial cell survival *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 11205-11210
- 11 Smith TJ. Cyclooxygenases as the principal targets for the actions of NSAIDs. *Rheum Dis Clin North Am* 1998; 24: 501-523
- 12 Sinicrope FA, Gill S. Role of cyclooxygenase-2 in colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2004; 23: 63-75
- 13 Oshima M, Dinchuk JE, Kargman SL, Oshima H, Hancock B, Kwong E, Trzaskos JM, Evans JF, Taketo MM. Suppression of intestinal polyposis in Apc delta716 knockout mice by inhibition of cyclooxygenase 2 (COX-2). *Cell* 1996; 87: 803-809
- 14 Seno H, Oshima M, Ishikawa TO, Oshima H, Takaku K, Chiba T, Narumiya S, Taketo MM. Cyclooxygenase 2- and prostaglandin E(2) receptor EP(2)-dependent angiogenesis in Apc(Delta716) mouse intestinal polyps. *Cancer Res* 2002; 62: 506-511
- 15 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
- 16 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
- 17 Williams CS, Tsujii M, Reese J, Dey SK, DuBois RN. Host cyclooxygenase-2 modulates carcinoma growth. *J Clin Invest* 2000; 105: 1589-1594
- 18 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
- 19 Joo YE, Rew JS, Seo YH, Choi SK, Kim YJ, Park CS, Kim SJ. Cyclooxygenase-2 overexpression correlates with vascular endothelial growth factor expression and tumor angiogenesis in gastric cancer. *J Clin Gastroenterol* 2003; 37: 28-33
- 20 Aoki T, Nagakawa Y, Tsuchida A, Kasuya K, Kitamura K, Inoue K, Ozawa T, Koyanagi Y, Itoi T. Expression of cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor in pancreatic tumors. *Oncol Rep* 2002; 9: 761-765
- 21 Kase S, Osaki M, Honjo S, Adachi H, Tsujitani S, Kaibara N, Ito H. Expression of cyclo-oxygenase-2 is correlated with high intratumoral microvessel density and low apoptotic index in human esophageal squamous cell carcinomas. *Virchows Arch* 2003; 442: 129-135
- 22 Rahman MA, Dhar DK, Yamaguchi E, Maruyama S, Sato T, Hayashi H, Ono T, Yamanoi A, Kohno H, Nagasue N. Coexpression of inducible nitric oxide synthase and COX-2 in hepatocellular carcinoma and surrounding liver: possible involvement of COX-2 in the angiogenesis of hepatitis C virus-positive cases. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1325-1332
- 23 Marrogi AJ, Travis WD, Welsh JA, Khan MA, Rahim H, Tazelaar H, Pairolero P, Trastek V, Jett J, Caporaso NE, Liotta LA, Harris CC. Nitric oxide synthase, cyclooxygenase 2, and vascular endothelial growth factor in the angiogenesis of non-small cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4739-4744
- 24 Mohammed SI, Craig BA, Mutsaers AJ, Glickman NW, Snyder PW, deGortari AE, Schlittler DL, Coffman KT, Bonney PL, Knapp DW. Effects of the cyclooxygenase inhibitor, piroxicam, in combination with chemotherapy on tumor response, apoptosis, and angiogenesis in a canine model of human invasive urinary bladder cancer. *Mol Cancer Ther* 2003; 2: 183-188
- 25 Davies G, Salter J, Hills M, Martin LA, Sacks N, Dowsett M. Correlation between cyclooxygenase-2 expression and angiogenesis in human breast cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 2651-2656
- 26 Fujiwaki R, Iida K, Kanasaki H, Ozaki T, Hata K, Miyazaki K. Cyclooxygenase-2 expression in endometrial cancer: correlation with microvessel count and expression of vascular endothelial growth factor and thymidine phosphorylase. *Hum Pathol* 2002; 33: 213-219
- 27 Gallo O, Masini E, Bianchi B, Bruschini L, Pagliarani M, Franchi A. Prognostic significance of cyclooxygenase-2 pathway and angiogenesis in head and neck squamous cell carcinoma. *Hum Pathol* 2002; 33: 708-714
- 28 Bamba H, Ota S, Kato A, Kawamoto C, Fujiwara K. Prostaglandins up-regulate vascular endothelial growth factor production through distinct pathways in differentiated U937 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 273: 485-491
- 29 Leung WK, To KF, Ng YP, Lee TL, Lau JY, Chan FK, Ng EK, Chung SC, Sung JJ. Association between cyclo-oxygenase-2 overexpression and missense p53 mutations in gastric cancer. *Br J Cancer* 2001; 84: 335-339
- 30 Ohno R, Yoshinaga K, Fujita T, Hasegawa K, Iseki H, Tsunozaki H, Ichikawa W, Nihei Z, Sugihara K. Depth of invasion parallels increased cyclooxygenase-2 levels in patients with gastric carcinoma. *Cancer* 2001; 91: 1876-1881
- 31 Dempke W, Rie C, Grothey A, Schmoll HJ. Cyclooxygenase-2: a novel target for cancer chemotherapy? *J Cancer Res Clin Oncol* 2001; 127: 411-417

电编 张敏 编辑 潘伯荣

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

第八届中西医结合实验医学研讨会

本刊讯 第八届中西医结合实验医学研讨会将于2006-10在南京举行, 现将征文通知公布如下:

1 截稿日期

2006-08-31截稿.

2 联系方式

南京中山东路305号南京军区总医院 齐名; 邮编: 210002; 电话: 025-52926620.