

MK-886与塞来昔布小剂量联合对小鼠结肠癌的抑制作用

何龙英, 刘春英, 高杉, 舒敏

何龙英, 刘春英, 高杉, 舒敏, 辽宁省大连市大连大学附属中山医院消化内科 辽宁省大连市 116001
何龙英, 硕士, 医师, 主要从事花生四烯酸对结肠癌相关影响的研究。

辽宁省科技计划基金资助项目, No. 2010225036

作者贡献分布: 此课题由何龙英与刘春英设计; 细胞培养及动物模型建立及后期RT-PCR操作、蛋白Western blot操作及统计分析由何龙英、高杉及舒敏完成; 论文写作由何龙英与刘春英完成。
通讯作者: 刘春英, 主任医师, 116001, 辽宁省大连市中山区解放街6号, 大连大学附属中山医院消化内科。

chunying@yahoo.com.cn

电话: 0411-62893080

收稿日期: 2013-10-19 修回日期: 2013-11-12

接受日期: 2013-11-27 在线出版日期: 2014-01-18

MK-886 combined with celecoxib inhibits colon cancer in mice

Long-Ying He, Chun-Ying Liu, Shan Gao, Min Shu

Long-Ying He, Chun-Ying Liu, Shan Gao, Min Shu, Zhongshan Hospital, School of Medicine, Dalian University, Dalian 116001, Liaoning Province, China

Supported by: the Scientific and Technological Program of Liaoning Province, No. 2010225036

Correspondence to: Chun-Ying Liu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Zhongshan Hospital, School of Medicine, Dalian University, 6 Jiefang Street, Zhongshan District, Dalian 116001, Liaoning Province, China. chunying56@yahoo.com.cn

Received: 2013-10-19 Revised: 2013-11-12

Accepted: 2013-11-27 Published online: 2014-01-18

Abstract

AIM: To study whether selective 5-lipoxygenase activating protein (FLAP) inhibitor MK-886 combined with selective cyclooxygenase 2 inhibitor celecoxib has an inhibitory effect on colon cancer in mice and to determine the optimal ratio.

METHODS: Different concentrations of MK-886 combined with different doses of celecoxib were used to treat Balb/c mice with colon cancer. RT-PCR and Western blot were used to detect the mRNA and protein expression of vascular endothelia growth factor (VEGF) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1). The effects of the two drugs on colon cancer growth and metastasis were also assessed.

RESULTS: MK-886 combined with celecoxib

effectively inhibited the growth and metastasis of murine colon carcinoma. MK-886 and celecoxib at the optimal ratio significantly decreased VEGF and ICAM-1 mRNA and protein expression compared to the control group (mRNA: $F = 25.826, 54.540, P = 0.01, 0.00$; protein: $F = 0.699, 22.761, P = 0.007, 0.000$).

CONCLUSION: MK-886 and celecoxib at the optimal ratio can effectively inhibit colon cancer growth and metastasis possibly by inhibition of VEGF and ICAM-1 gene and protein expression.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: MK-886; Celecoxib; Colon carcinoma; VEGF; ICAM-1

He LY, Liu CY, Gao S, Shu M. MK-886 combined with celecoxib inhibits colon cancer in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 215-220 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/215.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.215>

摘要

目的: 研究选择性5-脂氧合酶活化蛋白(5-lipoxygenase activating protein, FLAP)抑制剂MK-886与选择性环氧合酶-2(cyclooxygenase-2)抑制剂塞来昔布联合及最佳配比剂量对Balb/c小鼠结肠癌基因、蛋白抑制作用的影响。

方法: 分别用不同浓度的MK-886、塞来昔布配比联合对患结肠癌的Balb/c小鼠进行处理, 运用RT-PCR方法、Western blot方法, 观察血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、细胞间黏附因子-1(intercellular adhesion molecule, ICAM-1)的RNA、DNA、蛋白表达强弱, 进一步研究两种药物联合对Balb/c小鼠结肠癌组织的抑制生长、转移的作用。

结果: MK-886与塞来昔布联合能有效的抑制小鼠结肠癌的生长及转移, 其中MK-886与塞来昔布联合应用的最佳配比组(第5组)变化最明显; RT-PCR结果提示两种药物联合最佳配比剂量组VEGF、ICAM-1的mRNA表达最

■背景资料

花生四烯酸(arachidonic acid, AA)是多不饱和脂肪酸的主要成分, 其中主要的代谢途径是两种关键酶类环氧合酶(cyclooxygenase, COX)和脂氧合酶(lipoxygenase, LOX), 代谢产物在胃肠道肿瘤细胞转移过程中起重要作用。AA的上述两个代谢途径可能存在动态交叉平衡, 共同调节肿瘤的生长。

■同行评议者

肖秀英, 副主任医师, 上海市徐汇区中心医院肿瘤科

■ 研究前沿

应用选择性COX-2抑制剂或5-LOX抑制剂都可降低下游活性产物,抑制肿瘤细胞增殖,并诱导凋亡。但是关于联合抑制两条通路是否对结肠癌的转移有双重的抑制作用以及两者联合的最佳配比剂量有待进一步研究。

低(第5组 vs 对照组 $F = 25.826, 54.540, P = 0.01, 0.00 < 0.05$); Western blot实验观察到小鼠结肠癌组织内VEGF、ICAM-1蛋白表达减少,两种药物联合的最佳配比剂量应用组VEGF、ICAM-1表达量最低(第5组较其他各组 $F = 9.699, 22.761, P = 0.007, 0.000 < 0.05$)。

结论: MK-886与塞来昔布联合中最佳配比剂量比其他联合应用组更能有效抑制结肠癌,可能与抑制VEGF、ICAM-1基因及蛋白表达有关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: MK-88; 塞来昔布; Balb/c小鼠结肠癌组织; VEGF; ICAM-1

核心提示: 联合抑制5-脂氧合酶(lipoxygenase)和环氧合酶-2(cyclooxygenase)途径: 在每种药物不增加剂量的前提下,且机体能耐受的不良范围,探讨其作用机制对小鼠结肠癌的预防,治疗以及控制转移提供了新的实验依据。

何龙英, 刘春英, 高杉, 舒敏. MK-886与塞来昔布小剂量联合应用对小鼠结肠癌的抑制作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 215-220 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/215.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.215>

0 引言

随着人们生活饮食结构的改变,结肠癌的发生率在我国呈上升趋势;其中高脂肪类膳食,尤其不饱和脂肪酸代谢会促进肠道肿瘤发生。花生四烯酸(arachidonic acid, AA)的环氧合酶(cyclooxygenase, COX)途径和脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)途径在人类结肠癌增值及转移中起着重要的生物学效应^[1]。相关文献报道:5-LOX在结肠癌组织中表达率占71.4%,高表达为主;COX-2在结肠癌组织中表达率占69.7%,中等或过度表达为主^[2]。特异性COX-2抑制剂塞来昔布能够抑制结肠癌的增生并促进凋亡^[3];本实验是以Balb/c小鼠为载体,选用小鼠结肠癌细胞皮下种植造模,观察5-LOX活化蛋白(5-lipoxygenase activating protein, FLAP)抑制剂(MK-886)与塞来昔布最小剂量联合作用于小鼠移植瘤,对其血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、细胞间黏附因子-1(intercellular adhesion molecule, ICAM-1)基因及蛋白的抑制作用;从动物实验水平来进一步探讨两者可能产生的协同作用和最佳配比剂量关系。

1 材料和方法

1.1 材料 小鼠结肠癌CT-26细胞由清华大学细胞中心惠赠。Balb/c小鼠,♀,4-5周龄,体质量20-24 g,52只,购自大连医科大学动物实验研究所,实验动物合格证编号:SCXK(辽)2008-0002,于大连大学附属中山医院无特定病原体(SPF)环境中饲养。胰蛋白酶购自美国Gibico公司;RPMI 1640培养基、胎牛血清分别购自美国Hy-Clone公司;塞来昔布(Celecoxib)购自美国辉瑞制药有限公司;MK-886购自Cayman Chemical公司;二甲基亚砜(DMSO)为Sigma公司产品;TRIzol试剂盒、RT-PCR试剂盒,大连宝生物技术有限公司;引物序列合成由生工生物工程(上海)股份有限公司合成;兔抗鼠VEGF、ICAM-1单克隆抗体购自Santa Cruz公司;FITC标记山羊抗兔IgG购自生工生物工程(上海)股份有限公司;Western blot相关化学试剂均购自武汉碧云天生物技术有限公司;ECL发光试剂盒购自Pierce公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及传代: 在无菌细胞培养室的超净工作台中完成各项操作步骤;小鼠结肠癌CT-26细胞接种于含100 mL/L的胎牛血清及抗生素的1640培养基中,置于37 °C、50 mL/L CO₂、95%湿度孵箱中培养传代。取生长状态良好的指数生长期细胞作为实验组。

1.2.2 收集细胞及小鼠造模: 将处于指数生长期的细胞以胰酶消化后用无血清McCoy, 5A培养液反复洗涤、离心,弃上清,稀释细胞并调整细胞数为 3.0×10^7 /mL,每只Balb/c小鼠右上肢腋下皮肤消毒后,将该细胞悬液0.1 mL注射于皮下。皮下移植瘤模型造模采用文献和以往的方法-组织块套针法^[4-6]。

1.2.3 分组及治疗: 52只Balb/c小鼠,均饲养在SPF条件的层流架中,待移植瘤平均生长出5 mm后,去除瘤体最小的2只,余50只按随机区组设计分5组,每组10只。空白对照组(二甲亚砜0.5 μL/g)、MK-886联合塞来昔布[0 mg/(kg·d)+100 mg/(kg·d)、10 mg/(kg·d)+50 mg/(kg·d)、5 mg/(kg·d)+100 mg/(kg·d)、5 mg/(kg·d)+50 mg/(kg·d)]。每日给一次灌胃,连续治疗28 d后处死动物留取完整肿瘤组织。各组肿瘤组织分别采用RT-PCR、Westren blot检测VEGF、ICAM-1的mRNA及蛋白浓度表达。多余部分标记冻存于-80 °C冰箱中备用。

1.2.4 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法检测肿瘤

■ 相关报道

有文献报道,COX-2以及5-LOX抑制剂能减少血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达从而减少血管生长和胃腺瘤形成。报道显示MK-866对干扰髓细胞性白血病HL-60细胞和HT-29结肠腺癌细胞有抑制其DNA的合成,而发挥抗增殖的作用。在我们前期基础细胞学实验应用5-LOX抑制剂AA-861(多西苯醌)与塞来昔布对结肠癌HT-29细胞的增殖有较显著的抑制作用的基础上,进一步通过进行动物体内实验应用MK-866与塞来昔布联合对结肠癌的抑制作用。

表 1 RT-PCR法检测小鼠结肠癌裸鼠移植瘤组织中ICAM-1/actin、VEGF/actin r 值 (mean \pm SD)

分组	ICAM-1 mRNA表达(ICAM-1/actin)	VEGF-1 mRNA表达(VEGF/actin)
1 对照组	0.90 \pm 0.049	0.92 \pm 0.083
2 [10 mg/(kg \cdot d)+100 mg/(kg \cdot d)]	0.33 \pm 0.201 ^a	0.48 \pm 0.167 ^a
3 [10 mg/(kg \cdot d)+50 mg/(kg \cdot d)]	0.40 \pm 0.118 ^a	0.54 \pm 0.109 ^a
4 [5 mg/(kg \cdot d)+100 mg/(kg \cdot d)]	0.36 \pm 0.132 ^a	0.43 \pm 0.061 ^a
5 [5 mg/(kg \cdot d)+50 mg/(kg \cdot d)]	0.23 \pm 0.104 ^b	0.34 \pm 0.353 ^b

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组; ICAM-1: 细胞间黏附分子-1; VEGF: 血管内皮生长因子。

组织中VEGF、ICAM-1 mRNA表达: TRizol法提取移植瘤总RNA, 紫外线分光光度计定量RNA纯度(紫外分光光度法测定 A_{260} 及 A_{280} 值, 通过 $A_{260/280}$ 评价)。将5 μ g RNA逆转录为cDNA后行PCR。引物序列如下: ICAM-1: 上游5'-ACTTTCGATCTTC-CAGCTACCAT-3', 下游5'-GAACTCCT-CAGTCACCTCTACCA-3'; VEGF: 上游5'-GTCCAACCTTCTGGGCTCTTCT-3', 下游5'-ACTTCTGCTCTCCTTCTGTCGT-3'; actin: 上游5'-GAGACCTTCAACACCCCAGC-3', 下游5'-ATGTCACGCACGATTTCCC-3'; PCR反应条件: 初始变性95 $^{\circ}$ C, 3 min; 变性94 $^{\circ}$ C, 30 s; 低温退火30 s; 延伸72 $^{\circ}$ C, 30 s, 共35个循环; 最终延伸72, 10 min其中actin退火温度为54 $^{\circ}$ C, VEGF退火温度为54 $^{\circ}$ C, ICAM-1退火温度为53.4 $^{\circ}$ C。电泳分析: 取扩增产物进行凝胶琼脂糖(凝胶浓度为1%)电泳, 将凝胶置于凝胶成像分析系统下拍照及计算分析实验结果。

1.2.5 Western blot法检测VEGF、ICAM-1及actin蛋白表达: (1)收集组织总蛋白: 取小鼠移植瘤组织, 加入裂解液裂解, 12000 r/min离心, 5 min, 取上清液至新的离心管中, -20 $^{\circ}$ C或-80 $^{\circ}$ C冰箱中保存; (2)以BCA法蛋白定量, 调整样品质量浓度; (3)SDS-PAGE电泳分离后, 电转模到PVDF膜; (4)5%脱脂奶粉封闭2 h, 用含一抗封闭液置于4 $^{\circ}$ C孵育过夜; TPS-T洗膜; (5)置辣根过氧酶标记的羊抗兔二抗封闭液, 37 $^{\circ}$ C孵育1 h, TPS-T洗膜; (6)ECL显色, X光片曝光。

统计学处理 所有数据使用SPSS19.0统计软件进行分析检验, 数据用mean \pm SD表示, 采用单因素方差分析, 方差具有齐性时用SNK检验, 方差不齐用Tamhane's T2检验各组间数据的比较, $P < 0.05$ 为差异具有统计意义。

2 结果

2.1 RT-PCR检测小鼠结肠癌组织中VEGF、

ICAM-1 mRNA的表达 RT-PCR检测中对照组及各个实验组中基因的表达经电泳分析, 可见216、263、478 bp的扩增条带分别为ICAM-1、actin、VEGF, 并且小鼠结肠癌组织中随着药物浓度的不断增加及配比剂量的变化, 各药组VEGF、ICAM-1基因表达条带亮弱, 灰暗程度存在差异; 根据VEGF、ICAM-1和actin mRNA的表达程度计算条带 r 值, 以相对ICAM-1/actin条带 r 比值、VEGF/actin条带 r 比值来比较mRNA表达强弱, 并行统计学分析(表1, 图1)。

联合用药组较对照组ICAM-1、VEGF mRNA表达减弱, 联合用药各配比组间第5组[MK-886 5 mg/(kg \cdot d)+塞来昔布50 mg/(kg \cdot d)]组比其他3个组VEGF、ICAM-1 mRNA表达率明显降低弱, 有统计学意义($F = 25.826$ 、 54.540 , $P = 0.01$ 、 $0.00 < 0.05$)。第5组[MK-886 5 mg/(kg \cdot d)+塞来昔布50 mg/(kg \cdot d)]为最佳配比剂量组。

2.2 Western blot检测VEGF、ICAM-1和actin的蛋白表达水平 ICAM-1、VEGF蛋白分子量分别为60、27 kDa, 经SDS-PAGE电泳、Western杂交、曝光后在60、27 kDa位置上出现了颜色较深的相应条带; 对杂交条带进行半定量分析(Lab Works4.5凝胶成像软件), 以积分光密度值(integrated optical density, IA)表示蛋白含量, 各组之间运用相对IA进行数据分析(actin为内参对照, 相对IA值 = 分别VEGF、ICAM-1的IA值/actin的IA值); 并进行统计学分析(表2, 图2)。

联合用药组较对照组ICAM-1、VEGF蛋白表达减弱, 联合用药各配比组间第5组[MK-886 5 mg/(kg \cdot d)+塞来昔布50 mg/(kg \cdot d)]组比其他3个组VEGF、ICAM-1蛋白表达率明显降低弱, 有统计学意义($F = 9.699$ 、 22.761 , $P = 0.007$ 、 $0.000 < 0.05$)。第5组[MK-886 5 mg/(kg \cdot d)+塞来昔布50 mg/(kg \cdot d)]为最佳配比剂量组。

■创新盘点

联合抑制5-LOX和COX-2途径: 在每种药物不增加剂量的前提下, 且机体能耐受的不良反应范围内, 探讨其作用机制对小鼠结肠癌的预防, 治疗以及控制转移提供了新的实验依据。通过实验观察5-LOX及COX-2双通路对结肠癌的生长与转移抑制的影响; 观察5-LOX及COX-2联合的最佳配比对抑制结肠癌的生长与转移的影响。

■应用要点

5-LOX活化蛋白(5-lipoxygenase activating protein, FLAP)抑制剂与COX-2抑制剂联合应用对结肠癌组织的抑制作用可能与抑制VEGF、细胞间黏附因子-1(intercellular adhesion molecule, ICAM-1)有关,也可能作用于一系列信号通路及凋亡因子诱导肿瘤细胞凋亡,进一步阻断5-LOX或COX-2的促癌作用有关,亦可能存在于其他抗癌作用,其具体机制有待进一步研究,为临床应用MK-886及塞来昔布二级防治结肠癌提供了理论依据及实验依据。

表 2 Western blot法检测小鼠结肠癌裸鼠移植瘤组织中ICAM-1/actin、VEGF/actin I4值 (mean ± SD)

分组	ICAM-1蛋白表达	VEGF蛋白表达
	ICAM-1/actin I4平均值	VEGF/actin I4平均值
1 对照组	0.97 ± 0.147	1.17 ± 0.351
2 [10 mg/(kg · d)+100 mg/(kg · d)]	0.50 ± 0.116 ^a	0.45 ± 0.228 ^a
3 [10 mg/(kg · d)+50 mg/(kg · d)]	0.54 ± 0.181 ^a	0.34 ± 0.451 ^a
4 [5 mg/(kg · d)+100 mg/(kg · d)]	0.59 ± 0.158 ^a	0.49 ± 0.439 ^a
5 [5 mg/(kg · d)+50 mg/(kg · d)]	0.34 ± 0.196 ^b	0.14 ± 0.118 ^b

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 对照组; ICAM-1: 细胞间黏附分子-1; VEGF: 血管内皮生长因子。

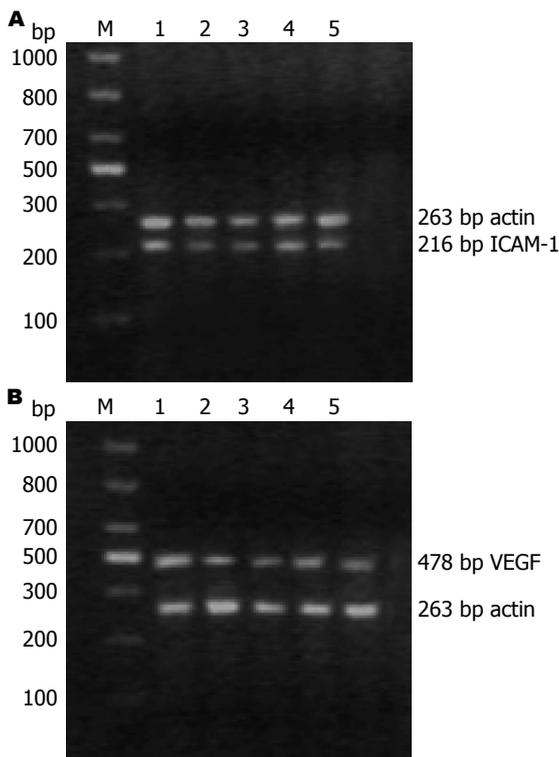


图 1 RT-PCR检测MK-866与塞来昔布单独及联合应用小鼠结肠癌组织内ICAM-1和VEGF的mRNA表达变化趋势情况。A: ICAM-actin; B: VEGF-actin。M: 相对分子质量标准(Marker); 1: 对照组; 2: MK-866 5 mg/(kg · d)+塞来昔布50 mg/(kg · d); 3: MK-866 5 mg/(kg · d)+塞来昔布100 mg/(kg · d); 4: MK-866 10 mg/(kg · d)+塞来昔布50 mg/(kg · d); 5: MK-866 10 mg/(kg · d)+塞来昔布100 mg/(kg · d)。ICAM-1: 细胞间黏附分子-1; VEGF: 血管内皮生长因子。

3 讨论

本实验各组是建立在Balb/c小鼠皮下种植小鼠结肠癌细胞造模的基础上分别应用选择性5-LOX活化蛋白(5-lipoxygenase activating protein, FLAP)抑制剂MK-886、选择性COX-2抑制剂塞来昔布其两者联合用药进行干预; 证明在小鼠体内应用MK-886与塞来昔布联合治疗明显抑制小鼠CT-26结肠癌细胞增值及移植瘤的生长、并明显抑制肿瘤细胞扩散。

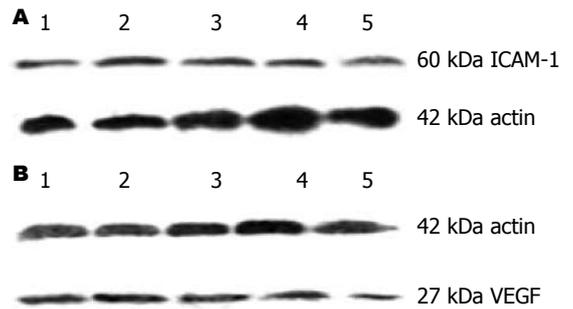


图 2 Western blot法检测MK-866与塞来昔布单独及联合应用小鼠结肠癌组织内ICAM-1和VEGF的蛋白表达变化趋势情况。A: ICAM-actin; B: VEGF-actin。1: 对照组; 2: MK-866 5 mg/(kg · d)+塞来昔布50 mg/(kg · d); 3: MK-866 5 mg/(kg · d)+塞来昔布100 mg/(kg · d); 4: MK-866 10 mg/(kg · d)+塞来昔布50 mg/(kg · d); 5: MK-866 10 mg/(kg · d)+塞来昔布100 mg/(kg · d)。ICAM-1: 细胞间黏附分子-1; VEGF: 血管内皮生长因子。

肿瘤的生长、侵袭和转移与血管的生成关系密切, 而血管的建立依赖于各种促血管生成因子的作用, 而VEGF是最为关键的血管生成因子。当肿瘤细胞分泌的VEGF因子暴露于静止的血管内皮细胞表面时, 该部分的血管内皮细胞就会以生芽儿的方式, 形成新的血管^[7,8]。任晋军等^[9]研究表明COX-2、E-钙黏素、VEGF在甲状腺癌的生长、扩散中起着重要作用, 三者联合检测可对甲状腺恶性程度及预后的判断提供有效证据; 夏光涛等^[10]发现应用5-LOX抑制剂作用于结肠癌HT-29细胞后, 随着药物浓度逐步升高, VEGF mRNA表达逐渐下降, 表明癌细胞血管生成能力下降, 肿瘤细胞转移能力下降; 张家乐等^[2]5-LOX和VEGF表达与结肠癌的转移关系密切。

在恶性肿瘤的发生发展中, 细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule, ICAM-1)与其配体LFA-1结合有抑制NK细胞和细胞毒T细胞的细胞杀伤作用, 使肿瘤细胞逃避机体的免

疫监视和攻击, 进一步促进肿瘤细胞的浸润和远处转移, 使机体产生不良影响^[11]. ICAM-1通过介导白细胞与肿瘤细胞黏附, 致原发肿瘤坏死和细胞分离, 增加浸润和转移; 在血液循环中肿瘤细胞/白细胞形成结合体, 而易于在毛细血管床滞留着床. 近年研究发现其黏附因子的异常表达与肿瘤侵袭和转移密切相关. Simianionaki等^[12]的研究中用LPS、TNF- α 和IL-6刺激大肠癌细胞(HT29、HRT18、SW620), 乳腺癌细胞(MCF-7)和黑色素瘤细胞(ST-ML-12)使他们发生炎症反应后6-48 h, ICAM-1基因表达上调. 另外他们认为ICAM-1通过炎症反应参与的肿瘤转移^[13,14].

本实验分别采用RT-PCR法、Western blot法检测MK-886、塞来昔布联合在小鼠CT-26结肠癌裸鼠皮下移植瘤中VEGF、ICAM-1的基因和蛋白表达, 结果MK-886及塞来昔布联合药物组比对照组小鼠移植瘤内VEGF、ICAM-1 mRNA及蛋白表达均显著下调, 其中配比最小剂量联合组呈最显著下调, 有统计学意义($P < 0.05$); 李金凤等^[15]研究表明AA-861联合塞来昔布对体外结肠癌细胞株HT-29具有抑制生长及诱导凋亡等协同抗肿瘤作用, 这与本实验研究结果相符, 但ICAM-1通路如何参与MK-886和塞来昔布单独用药及联合用药抑制肿瘤作用机制尚需进一步研究.

总之, AA代谢途径中两条主要通路的关键酶分别是COX和LOX, 有关COX在恶性肿瘤中的研究已经十分深入, 相应的药物现已经进入临床并取得应用, 近几年国内外科科技人员致力于5-LOX促癌机制的研究, 已取得一定成果, 相关实验证实了单独应用5-LOX活化蛋白(FLAP)抑制剂MK-866^[16]以及单独应用COX-2抑制剂塞来昔布对小鼠结肠癌均有抑制作用, 本实验对两种药物联合对小鼠结肠癌的抑制作用比单独任何一种药其最大剂量的抑制作用更加明显; 其中联合剂量的配比不同对结肠癌的抑制作用不同, 两者联合最小剂量对结肠癌抑制作用明显强于其他配比剂量; 存在最佳配比剂量关系. 超大剂量的应用单一药物的不良反应是无法避免的, 从多个不同环节考虑发挥抗癌作用, 已是近几年研究抑制肿瘤发生及转移的热点. 结肠癌的药物治疗应采用多种药物的联合治疗, 这样可以在机体耐受每一种药物的不良反应范围内及不增加剂量的前提下, 产生最大的抑制肿瘤的作用. FLAP抑制剂与COX-2抑制剂

联合应用对结肠癌组织的抑制作用可能与抑制VEGF、ICAM-1有关, 也可能作用于一系列信号通路及凋亡因子诱导肿瘤细胞凋亡, 进一步阻断5-LOX或COX-2的促癌作用有关, 亦可能存在于其他抗癌作用, 其具体机制有待进一步研究, 为临床应用MK-886及塞来昔布二级防治结肠癌提供了提论基础及实验依据.

4 参考文献

- Ghosh J. Inhibition of arachidonate 5-lipoxygenase triggers prostate cancer cell death through rapid activation of c-Jun N-terminal kinase. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 307: 342-349 [PMID: 12859962 DOI: 10.1016/S0006-291X(03)01201-4]
- 王家乐, 许建明, 梅 俏, 鲍峻峻. 结肠癌组织中5-LOX和COX-2的表达. *安徽医科大学学报* 2006; 41: 58-60
- Patsos HA, Hicks DJ, Dobson RR, Greenhough A, Woodman N, Lane JD, Williams AC, Paraskeva C. The endogenous cannabinoid, anandamide, induces cell death in colorectal carcinoma cells: a possible role for cyclooxygenase 2. *Gut* 2005; 54: 1741-1750 [PMID: 16099783 DOI: 10.1136/gut.2005.073403]
- 董青, 李春, 马成杰, 陈信义. 新加良附方对移植性人胃癌抑制效应研究. *北京中医药大学学报(中医临床版)* 2008; 15: 14-16
- 董青, 田邵丹, 侯丽, 陈信义. 新加良附方对移植性人胃癌细胞F/FL表达影响. 第三届国际中医、中药结合肿瘤学术交流大会暨第十二届全国中西医结合肿瘤学术大会论文汇编, 2010
- 苑伟, 陈彬, 赵爱光, 徐燕, 曹雯, 慕晓艳. 健脾复方对人胃癌细胞株MKN-45裸鼠皮下移植瘤模型非特异性免疫功能的影响. *中华中医药杂志(原中国医药学报)* 2013; 9: 2766-2770
- Sato Y, Abe M, Tanaka K, Iwasaka C, Oda N, Kanno S, Oikawa M, Nakano T, Igarashi T. Signal transduction and transcriptional regulation of angiogenesis. *Adv Exp Med Biol* 2000; 476: 109-115 [PMID: 10949659 DOI: 10.1007/978-1-4615-4221-6_9]
- Wang X, Wang G, Kunte M, Shinde V, Gorbatyuk M. Modulation of angiogenesis by genetic manipulation of ATF4 in a mouse modulation of angiogenesis by genetic manipulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54: 5995-6002 [PMID: 23942974 DOI: 10.1167/iovs.13-12117]
- 任晋军, 米语录, 孙瑞芳. 环氧合酶-2、血管内皮生长因子及上皮钙黏素在甲状腺癌中的表达及临床意义. *肿瘤研究与临床* 2010; 22: 400-403
- 夏光涛, 张源潮, 武森森, 阴丽霞, 张尚忠. 脂氧合酶抑制剂NDGA对HT-29结肠癌细胞诱导凋亡机制研究. *中国现代普通外科进展* 2006; 9: 208-214
- Nasu R, Mizuno M, Kiso T, Shimo K, Uesu T, Nasu J, Tomoda J, Okada H, Tsuji T. Immunohistochemical analysis of intercellular adhesion molecule-1 expression in human gastric adenoma and adenocarcinoma. *Virchows Arch* 1997; 430: 279-283 [PMID: 9134038 DOI: 10.1007/BF01092750]
- Simiantonaki N, Jayasinghe C, Kirkpatrick CJ. Effect of pro-inflammatory stimuli on tumor cell-mediated induction of endothelial cell adhesion molecules in vitro. *Exp Mol Pathol* 2002; 73: 46-53 [PMID: 12127053 DOI: 10.1006/exmp.2002.2440]
- Epperly MW, Sikora CA, DeFilippi SJ, Gretton JE, Bar-Sagi D, Archer H, Carlos T, Guo H, Greenberger JS. Pulmonary irradiation-induced expression of

■名词解释

MK-886: 从吡啶美辛和舒林酸等一系列COX抑制剂优化衍生出来的吡啶化合物, 像钝化剂一样与FLAP结合, 阻止LOX的活化他是第一个被广泛应用于临床研究的FLAP抑制剂; FLAP: 定位于核膜上的膜结合蛋白, 介导LOX转移锚定到核膜上; 同时具有结合底物AA, 并递呈给核膜上LOX的作用.

■同行评价

项目设计合理, 技术路线正确, 具有一定的研究基础, 达到了预期目的.

- VCAM-I and ICAM-I is decreased by manganese superoxide dismutase-plasmid/liposome (MnSOD-PL) gene therapy. *Biol Blood Marrow Transplant* 2002; 8: 175-187 [PMID: 12014807 DOI: 10.1053/bbmt.2002.v8.pm12014807]
- 14 李春辉, 潘理会, 李春雨, 谢红娟. 细胞粘附分子与肿瘤侵袭转移的关系. 承德医学院报 2002; 19: 64-66
- 15 李金凤, 刘春英, 邓卫巍, 刘春晖, 多西苯醌联合塞来昔布对结肠癌细胞转移作用的研究. 肿瘤研究与临床 2011; 7: 433-437
- 16 朱小朝, 时坤, 周广军. MK-866在人结肠癌裸鼠模型中的抗血管生成作用. 肿瘤防治研究 2010; 37: 23-25

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.



百世登

Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079



9 771009 307056