

- tein crosslinks and apoptosis[J]. *Mutat Res*, 2000, 455: 111-127.
- 9 Plappert U, Raddatz K, Roth S, et al. DNA-damage detection in man after radiation exposure-the comet assay-its possible application for human biomonitoring[J]. *Stem Cells*, 1995, 13(suppl1): 215-222.
 - 10 Marcon F, Andreoli C, Rossi S, et al. Assessment of individual sensitivity to ionizing radiation and DNA repair efficiency in a healthy population[J]. *Mutat Res*, 2003, 541(1-2): 1-8.
 - 11 Hellman B, Vaghef H, Bostrom B. The concepts of tail moment and tail inertia in the single cell gel electrophoresis assay[J]. *Mutat Res*, 1995, 336(2): 123-131.
 - 12 Garaj-Vrhovac V, Kopjar N, Razem D, et al. Application of the alkaline comet assay in biodosimetry: assessment of in vivo DNA damage in human peripheral leukocytes after a gamma radiation incident[J]. *Radiat Prot Dosi*, 2002, 98(4): 407-416.
 - 13 Frenzilli G, Bosco E, Antonelli A, et al. DNA damage evaluated by alkaline single cell gel electrophoresis (SCGE) in children of chernobyl, 10 years after the disaster[J]. *Mutat Res*, 2001, 491(1-2): 139-149.
 - 14 Grant AH, Jolyon HH, Paul DC, et al. Germ cell and dose-dependent DNA damage measured by the comet assay in murine spermatozoa after testicular X-irradiation[J]. *Biol Reprod*, 2002, 67(3): 854-861.
 - 15 Helma C, Uhl M. A public domain image-analysis program for the single-cell gel- electrophoresis comet assay[J]. *Mutat Res*, 2000, 466: 9-15.
 - 16 Konca K, Lankoff A, Banasik A, et al. A cross-platform public domain PC image-analysis program for the comet assay[J]. *Mutat Res*, 2003, 534: 15-20.
 - 17 Hartmann A, Plappert U, Poetter F, et al. Comparative study with the alkaline comet assay and the chromosome aberration test [J]. *Mutat Res*, 2003, 536: 27-38.
 - 18 He JL, Chen WL, Jin LF, et al. Comparative evaluation of the in vitro micronucleus test and the comet assay for the detection of genotoxic effects of X-ray radiation[J]. *Mutat Res*, 2000, 469(2): 223-231.
 - 19 He JL, Chen WL, Jin LF, et al. Comet assay and cytokinesis-blocked micronucleus test for monitoring the genotoxic effects of X-ray radiation in humans[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2000, 113(10): 911-914.

(收稿日期: 2005-01-05)

文章编号: 1001-098X(2005)03-0129-03

环氧合酶-2 抑制剂及其辐射增敏效应

周乐源 周菊英

摘要 环氧合酶-2(COX-2)抑制剂因其广泛的预防和抑制肿瘤作用,近年来得到人们的关注。COX-2 抑制剂与射线合并作用于肿瘤细胞时产生了辐射增敏现象,增敏的机制可能是 COX-2 抑制剂改变了细胞周期分布,抑制细胞的亚致死性损伤修复,提高对辐射诱导凋亡易感性等。

关键词 环氧合酶-2; 辐射增敏; 肿瘤

中图分类号 R730.55 文献标识码 A

COX-2 inhibitors and enhancement of tumor radiosensitivity

ZHOU Le-yuan ZHOU Ju-ying

(Department of Radiation Oncology, The First Affiliated Hospital of Suzhou University, Suzhou 215006, China)

Abstract Cyclooxygenase-2(COX-2) inhibitors has recently received extensive attention for its role in prevention and inhibition of malignancies. COX-2 inhibitors are enhancers of tumor cells response to irradiation. The possible mechanisms consist of effect on cell cycle distribution, inhibition of repair from sublethal radiation damage, increasing susceptibility of cells to radiation-induced apoptosis.

Key Words cyclooxygenase-2 ; radiosensitization; tumor

1 COX-2

环氧合酶(cyclooxygenase, COX)是花生四烯酸转化为前列腺素的限速酶,存在 COX-1 和 COX-2 两种同功酶,其中 COX-2 是一种诱导酶。通常,COX-2 在大多数正常细胞中不表达,只参与炎症

和肿瘤的病理过程,而在许多肿瘤如肺癌、乳腺癌、结肠癌以及头颈部鳞癌等中则有稳定表达。大量的研究表明,COX-2 的表达与人类多数肿瘤呈密切相关,它参与了肿瘤细胞的生长、转化和凋亡的过程,同时也与细胞的运动、转移以及肿瘤新生血管的形成关系密切。

很多作者研究了 COX-2 在包括胃癌、结肠癌、

作者单位: 215006, 苏州大学附属第一医院放射治疗科

乳腺癌和肺癌中的过度表达, 以及它与其他一些癌基因和相关蛋白质表达关系的研究。Kotha S 等^[1]研究表明, COX-2 的表达与 Her-2 表达相关, 在 Her-2 过度表达的乳腺癌细胞中, COX-2 表达显著增高, 且认为 Her-2 通过 Ras 途径诱导了 COX-2 的表达。Murata H 等^[2]研究了 COX-2 的表达与胃癌的浸润深度、淋巴结转移的关系, 认为肿瘤浸润越深以及淋巴结转移越广泛, 则 COX-2 阳性表达率越高。肿瘤生长到一定体积之后, 必然需要新生血管来提供养分, COX-2 的衍生物前列腺素通过自分泌和旁分泌的方式激活和参与了肿瘤新生血管的形成, 促进肿瘤的进展^[3]。可以推断, COX-2 通过各种途径, 在肿瘤发生的不同阶段使细胞发生恶性转化, 获得永生性, 促进细胞增殖, 抑制凋亡, 诱导肿瘤微血管, 生成各种细胞因子, 使肿瘤易于脱落转移。

2 COX-2 抑制剂在抗肿瘤方面的研究

以往的研究发现, 在一些经常服用非甾体类抗炎药(nonsteroidal anti-inflammatory drug, NSAID)的人群, 恶性肿瘤的发生率要比普通人群低得多。考虑到 NSAID 发挥作用的环节与 COX-2 抑制剂相同, COX-2 抑制剂是否也能成为预防和抑制肿瘤发生和发展的有效药物呢? 在细胞和整体的动物实验中, 这一推断都得到了证实^[4,5], 而且一些 COX-2 抑制剂如 celecoxib (起初作为抗炎镇痛药应用于临床), 发现了其潜在的令人鼓舞的抗肿瘤作用。由于 COX-2 抑制剂是一类特异性抑制剂, 因此与传统的 NSAID 相比副反应要小得多, 可以长期应用。关于 COX-2 抑制剂的抗肿瘤作用及其作用机制已有许多文献讨论, 这里不作详细叙述, 着重讨论 COX-2 抑制剂与辐射联合作用时对肿瘤的增敏作用。

3 COX-2 抑制剂的辐射增敏作用

COX-2 在恶性肿瘤细胞中的高表达, 不仅使肿瘤细胞表现出更具侵袭性和扩散转移的生物学行为, 而且也表现其对化疗药物及射线的耐受性。Terakado N 等^[6]观察了 8 种口腔鳞癌的细胞株, 发现 COX-2 表达水平的高低与辐射敏感性呈负相关, 这一现象在体外培养的肿瘤细胞及癌症患者身上都得以表现。在使用了 COX-2 抑制剂后, 能否改变肿瘤细胞的辐射敏感性, 其作用产生的机制又是如何, 这又成为了人们感兴趣的课题。

3.1 COX-2 抑制剂的辐射增敏现象

在离体实验中, Uma R 等^[5]应用 SC-236 (一种特异性 COX-2 抑制剂) 处理小鼠肉瘤细胞 3d, 该细胞对射线的敏感性明显升高, 在 SC-236 为 50 μ mol/L 时, 细胞存活分数为 0.1 的条件下, 增强因子 (enhancing factor, EF) 为 1.51。Petersen C 等^[7]用 50 μ mol/L SC-236 处理胶质细胞瘤 U251 时, 其 EF 值为 1.4。Pyo H 等^[8]也报道了 NS398 (另一种 COX-2 抑制剂) 在离体实验中提高了 H 460 肺癌细胞的辐射敏感性。在在体实验中^[7], 用裸鼠移植瘤观察到 COX-2 抑制剂明显提高肿瘤对射线的反应, 以肿瘤控制概率和肿瘤生长延迟为观察指标, 当肿瘤直径达 6 mm 时给予荷瘤小鼠 6 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹ 的 SC-236, 共 10 d, 当肿瘤直径达 8 mm 时开始照射, EF 达 1.7~3.64。最新的临床观察也显示了 COX-2 抑制剂 celecoxib 的应用对肺癌放疗患者良好反应^[9]: 在使用 celicoxib 合并放疗 (包括行局部姑息及根治性放疗) 的病例中, 在 20 月的观察期内, 67% 的患者未出现局部肿瘤进展。Kishi K 等^[10]报道, SC-236 在增强小鼠对肿瘤辐射敏感性的同时, 未增加正常组织的损伤。

3.2 对于 COX-2 抑制剂的辐射增敏机制的探讨

COX-2 抑制剂是如何发挥其辐射增敏的效应的? 通过怎样的途径来作用于离体和在体肿瘤细胞? 是否为简单的两种效应的叠加? 对此, 研究者提出了一些不同的见解, 归纳大体可以分为直接作用和间接作用两大类。其中, 间接作用主要是指 COX-2 抑制剂参与了肿瘤血管生成的抑制和对机体的免疫刺激效应, 从而发挥了抑制肿瘤生长的效应。这里主要讨论的是 COX-2 抑制剂对肿瘤细胞的直接作用。

3.2.1 使细胞周期发生改变

细胞的辐射敏感性与细胞所处的周期时相密切相关。G₂/M 期细胞对辐射最为敏感, 而 S 期细胞则对辐射相对抗拒。以往的研究也发现了 NSAID 能使细胞进入 G₂/M 期, 而 Chang HC 等^[11]发现, NS398 可以使 A549 肺癌细胞发生 G₁ 期阻滞。SC-236 的作用则使 NFSa 细胞在 G₂/M 时相上的聚集, 若此时给予细胞一定剂量的照射, 结果肯定是杀灭了更多的肿瘤细胞, 细胞周期的调控依赖于细胞周期蛋白 (cyclin) 的调节, 细胞在进入下一个周期时, 首先需要通过一个检查点, cyclinA (为

DNA合成起始时所需)和 cyclinB(调整细胞通过细胞周期的M期)需要形成 CDK1/CDK2 复合物。而 SC-236 则干预了细胞分子进程的过程。研究发现,用 SC-236 处理的细胞, cyclinA₂、cyclinB₁ 和 cyclinB₂ 的 mRNA 水平降低,同时 CDK1/CDK2 的表达也降低。这一事件的结果是细胞周期进程的阻滞,导致 G₂/M 时相细胞的聚集、该时相细胞易被杀灭的特点,表现为细胞敏感性的增强。

但是,另一个事实是,SC-236 作用于 U251 胶质瘤细胞后,U251 细胞未发生 G₂/M 时相的聚集,而对辐射敏感性增强的这一现象依然存在^[7]。究其原因,Uma R 等^[5]作出这样的推断:若 SC-236 要使 U251 胶质瘤细胞发生 G₂/M 期阻滞,还需依赖细胞的其他因素,其中 P53 蛋白就是其中一个重要的因素,因为 P53 蛋白是被认为有调节 cyclinB 基因转录的功能,而在 U251 细胞系中,p53 基因是个突变型^[12],所以其功能失活,因此未发生明显的细胞周期时相的变化。但是,U251 细胞在 SC-236 作用后,的确发生了辐射增敏现象,考虑应该还与别的机制有关。

3.2.2 抑制细胞的亚致死性损伤的修复(sublethal damage repair, SLDR)

SLDR 的抑制首先由 Peterson C 等^[7]提出,他们在使用 SC-236 处理 U251 胶质瘤细胞后发现,经辐射后得到的细胞存活曲线肩区消失,以后用 NFSa 细胞及 H460 细胞系实验时也得到了类似结果。Uma R 等^[5]实验证实了这一点:他们将一给定的剂量分为两次照射,中间间隔 4h,发现未用 SC-236 处理的细胞恢复比为 1.44,而用 SC-236 处理过的细胞恢复比为 1.1,表明 SC-236 确实抑制了 SLDR,通过此途径参与了辐射增敏反应。有关损伤修复的蛋白质水平以及修复基因改变尚未见报道。

3.2.3 提高细胞对辐射诱导凋亡的易感性

Koki AT 等^[13]报道,SC-236 作用于细胞后,本身能够单独地诱导细胞凋亡,但是作用后存活下来的细胞对辐射诱导的凋亡表现出更高的敏感性。但是这一结论还是存在着争论^[8],值得进一步去探讨。

3.2.4 存在的其他可能的机制

COX-2 抑制剂抑制了前列腺素的生成,体外实验表明,用 SC-236 处理细胞 3d 后用 6Gy 剂量射线照射和未用 COX-2 抑制剂处理仅给予照射 6Gy 时前列腺素 E 水平明显要偏低,而前列腺素则被认为

为是一种辐射保护因子^[5];细胞经照射后常表现为 COX-2 蛋白水平的上调,而 COX-2 抑制剂抑制了 COX-2 蛋白上调,从而也表现出辐射增敏的作用^[14]。

总之,COX-2 抑制剂确实存在着辐射增敏效应,有着光明的临床应用前景。而关于 COX-2 抑制剂通过哪些途径发挥辐射增敏效应的真正机制尚未明了,还待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Subbaramaiah K, Norton L, Gerald W, et al. Cyclooxygenase-2 is overexpressed in HER-2/neu-positive breast cancer [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(21): 18649-18657.
- 2 Murata H, Kawano S, Tsuji S, et al. Cyclooxygenase-2 overexpression enhances lymphatic invasion and metastasis in human gastric carcinoma[J]. *Am J Gastroenterol*, 1999, 94(2): 451-455.
- 3 Trifan OC, Hla T. Cyclooxygenase-2 modulates cellular growth and promotes tumorigenesis[J]. *J Cell Mol Med*. 2003, 7(3): 207-222.
- 4 Nakata E, Mason KA, Hunter N, et al. Potentiation of tumor response to radiation or chemoradiation by selective cyclooxygenase-2 enzyme inhibitors[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2004, 58(2): 369-375.
- 5 Uma R, Eiko N, Peiying Y, et al. In vitro enhancement of tumor cell radiosensitivity by a selective inhibitor of cyclooxygenase-2 enzyme: mechanistic consideration[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2002, 54: 886-894.
- 6 Terakado N, Shintani S, Yano J, et al. Overexpression of cyclooxygenase-2 is associated with radioresistance in oral squamous cell carcinoma[J]. *Oral Oncol*, 2004, 40(4): 383-389.
- 7 Petersen C, Petersen S, Milas L, et al. Enhancement of intrinsic tumor cell radiosensitivity induced by a selective cyclooxygenase-2 inhibitor[J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(6): 2513-2520.
- 8 Pyo H, Choy H, Amorino GP, et al. A selective cyclooxygenase-2 inhibitor, NS-398, enhances the effect of radiation in vitro and in vivo preferentially on the cells that express cyclooxygenase-2[J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(10): 2998-3005.
- 9 Liao Z, Komaki R, Milas L, et al. Phase I clinical trial using selective cyclooxygenase-2 (Cox-2) inhibitor celecoxib with concurrent thoracic irradiation in patients with poor prognosis non-small cell lung cancer (NSCLC)[C]. *Proceedings of the 46th Annual ASTRO Meeting*.
- 10 Kishi K, Petersen S, Petersen C, et al. Preferential enhancement of tumor radioresponse by a cyclooxygenase-2 inhibitor[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(5): 1326-1331.
- 11 Chang HC, Weng CF. Cyclooxygenase-2 level and culture conditions influence NS398-induced apoptosis and caspase activation in lung cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2001, 8(6): 1321-1325.
- 12 Krause K, Wasner M, Reinhard W, et al. The tumour suppressor protein p53 can repress transcription of cyclin B[J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(22): 4410-4418.
- 13 Koki AT, Leahy KM, Masferrer JL. Potential utility of COX-2 inhibitors in chemoprevention and chemotherapy[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 1999, 8(10): 1623-1638.
- 14 Steinauer KK, Gibbs I, Ning S, et al. Radiation Induces upregulation of cyclooxygenase 2 (Cox-2) protein in PC-3 cells [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2000, 48(2): 325-328.