

УДК 618.19-006.6-036

РОЛЬ ЭКСПРЕССИИ ЦИКЛООКСИГЕНАЗЫ-2 В ПРОГНОЗЕ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

И.В. Колядина¹, И.В. Поддубная¹, Е.М. Рошин², Д.В. Комов², А.С. Ожерельев², М.Б. Ориновский²,

¹Кафедра онкологии ГОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования Росздрава»,

²Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва

Колядина Ирина Владимировна – e-mail: irinakolyadina@yandex.ru

Экспрессия циклооксигеназы-2 (COX-2) является патологической и индуцируется различными стимулирующими факторами, энзим играет важную роль в пролиферации клеток. Частота экспрессии COX-2 в злокачественных опухолях молочной железы составляет от 5 до 100%. В исследованиях последних лет выявлена связь экспрессии COX-2 и активности фермента ароматазы, с уровнем экспрессии сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), с интенсивностью образования новых сосудов опухоли. Описана корреляция COX-2 с такими факторами неблагоприятного прогноза, как молодой возраст пациенток, метастатическое поражение лимфатических узлов, большие размеры опухоли, 3-я степень анаплазии, гиперэкспрессия HER-2-neu, что ассоциировано с увеличением риска возникновения рецидивов болезни, укорочения времени до прогрессирования болезни, снижения показателей общей и безрецидивной выживаемости и увеличения риска смерти от дальнейшего прогрессирования при COX-позитивных опухолях.

Ключевые слова: рак молочной железы, экспрессия COX-2, факторы прогноза.

Expression COX-2 is pathological and induces by different promotional factors, enzyme plays important role in proliferation of cells. The frequency of COX-2 in malignance breast tumors amount from 5 to 100%. Last year study found connection COX-2 and activity of aromatase enzyme, level of expression VEGF, intensive of growth new vessels tumors. Correlation between COX-2 and so negative prognosis factors as young age, metastasis involvement lymph nodes, big tumor size, 3 degree of anaplasia, HER-2-expression was described. COX-positive tumors associate with increase of risk beginnings recurrences of disease and death from progression, contraction of time to progression, decrease of complete and disease-free survival.

Key words: breast cancer, expression COX-2, prognosis factors.

Циклооксигеназы (COX) являются ферментами, участвующими в метаболизме простагландинов, тромбоксана и простоциклина. Под действием различных факторов (физических, химических, воспалительных или митогенных стимулов) из фосфолипидов клеточных мембран под действием фосфолипазы A2 высвобождается арахидоновая кислота. Под влиянием COX она преобразуется в нестабильный промежуточный простагландин H₂, который под действием специфических для разных тканей изомераз превращается в многочисленные простагландины, тромбоксан и простоциклин. Простагландины активизируют специфические рецепторы на мембранах клеток, принадлежащие к семейству рецепторов, сопряженных с G-протеинами. В начале 90-х годов было идентифицировано две разновидности фермента – COX-1 и COX-2, которые кодируются различными генами. Оба гена COX очень схожи, как и оба изофермента, имеющие практически идентичные трехмерные структуры. Активные центры двух COX отличаются только по одному аминокислотному остатку. Экспрессия циклооксигеназ различна в тканях (таблица): COX-1 является конститутивной, т. к. присутствует в актив-

ной форме практически во всех органах и тканях, включая желудочно-кишечный тракт, почки и тромбоциты, и ответственна за опосредование рутинных физиологических функций: в тромбоцитах она обеспечивает превращение арахидоновой кислоты в тромбоксан, а в стенках желудка и кишечника является источником защищающих слизистую цитопротективных простагландинов. Напротив, COX-2 является индуцибельной, в обычных условиях присутствует в небольшом количестве в веществе головного мозга и в корковом слое почек. В других тканях экспрессия COX-2 является патологической и индуцируется стимулирующими факторами: цитокинами (интерлейкинами, факторами некроза опухоли), свободными радикалами кислорода, липополисахаридами, активаторами тканевого плазминогена, митогенными факторами и др. [1]. Высокая экспрессия COX-2 обнаруживается в синовиальной жидкости суставов у больных при ревматических заболеваниях, причем выраженность и распространенность экспрессии прямо пропорциональна интенсивности воспаления и инфильтрации тканей [2]. Глюкокортикоиды уменьшают экспрессию COX-2, практически не влияя на COX-1.

ТАБЛИЦА.**Характеристика изоформ циклооксигеназы COX-1 и COX-2 [1]**

Показатели сравнения	Изоформы циклооксигеназы	
	COX-1	COX-2
Условия синтеза	конститутивная изоформа	индуцибельная изоформа
Регуляция	общая	местная
Тканевая экспрессия	тромбоциты, эндотелий, почки, желудок и др.	активированные моноциты, фибробласты, клетки синовиальной оболочки суставов, предстательная железа, мозг и др.
Предполагаемая роль	синтез простагландинов, регулирующих микроциркуляцию, функции почек, желудка,	синтез простагландинов, участвующих в механизмах воспаления, деления клеток
Факторы, стимулирующие образование изоформы	физиологические	воспалительные, митогенные
Кратность повышения синтеза под влиянием стимулирующих факторов	в 2–4 раза	в 10–80 раз
Кодирующие гены	22 kb + 11 аминокислотных остатков (экзонов)	8,3 kb + 10 аминокислотных остатков (экзонов)
Молекулярная масса	70 kD	70 kD (гомология с COX-1 — 60%)
Локализация фермента в клетке	цитоплазма	околоядерная область

Исследования последних лет выявили важную роль экспрессии COX-2 в возникновении различных предопухолевых и опухолевых новообразований: лейкоплакии и плоскоклеточного рака полости рта [3], злокачественных опухолей пищевода, толстой кишки, легких, молочной железы, вульвы, почки, мочевого пузыря, кожи и др. [4, 5, 6].

Опухоли с гиперэкспрессией COX-2 теряют способность к апоптозу, в них происходит активация неоангиогенеза и повышение адгезии раковых клеток к экстрацеллюлярному матриксу, что ведёт к увеличению метастатического потенциала и неблагоприятному прогнозу онкологического заболевания [7].

Поскольку экспрессия COX-2 регулируется цитокинами и факторами роста, фермент играет важную и многогранную роль в пролиферации клеток [8, 9, 10]. Существуют данные о совместном стимулирующем влиянии циклооксигеназы-2 с фактором некроза опухоли-альфа и интерлейкином-1 на транскрипцию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и его рецепторов, что приводит к неоангиогенезу [11, 12]. В экспериментальных исследованиях на животных доказана четкая зависимость интенсивности неоангиогенеза и экспрессии COX-2: Lavalle G. с помощью иммуногистохимического исследования в 100% случаях образцов рака молочной

железы у собак выявил экспрессию фермента COX-2 и наличие ассоциации с интенсивностью образования новых сосудов в опухоли (индекс microvessel density) [13]. Другой путь стимулирования пролиферации изучен в работах Subbaramaiah K. и соав.: простагландин E2, образующийся под действием COX-2, активизирует рецепторы эпидермального фактора роста (патологический сигнальный путь «EGFR --> ERK1/2», что приводит к неконтролируемой пролиферации клеток и появлению способности к их миграции (метастазированию) [14, 15, 16].

В последние годы активно изучаются гиперэкспрессия COX-2 в предопухолевых образованиях и злокачественных опухолях молочной железы, возможные механизмы реализации и значение гиперэкспрессии фермента для прогноза рака молочной железы [17–21]. Частота экспрессии COX-2 в злокачественных новообразованиях молочной железы значительно варьирует – от 5 до 100% (Krcova Z. и соав.) [22]. Существуют данные о том, что циклогеназа-2 участвует в регуляции эстрогенов в нормальной и опухолевой ткани молочной железы посредством регуляции активности фермента ароматазы [23, 24]. Исследования последних лет выявили зависимость экспрессии гена, регулирующего активность ароматазы (CYP19) и гена экспрессии COX. Получены данные о том, что нестероидные препараты, блокирующие COX, подавляют синтез CYP19 и уменьшают активность ароматазы, что может открыть новые перспективы терапии гормонозависимого рака молочной железы [25–28].

Salhab M. и соав. [29] выявили значительную положительную корреляцию ($p < 0,0001$) между уровнем экспрессии COX-2 и активностью ароматазы (экспрессией mRNA) в 160 образцах нормальной и опухолевой ткани молочной железы, и был сделан вывод о контролирующем значении COX-2.

Группа ученых из Китая (Li E.X. и соав.) сравнили уровни экспрессии COX-2 и VEGF в доброкачественных и злокачественных опухолях молочной железы с образцами здоровой ткани молочной железы. Уровень экспрессии сосудистого эндотелиального фактора роста (sVEGF) в карциномах был максимальным – 49 ± 8 pg/ml, в доброкачественных неоплазиях он составил 8 ± 4 pg/ml, в здоровой ткани молочной железы не превышал порогового уровня (5 ± 3 pg/ml). Экспрессия COX-2 присутствовала в 44,1% карцином и в 11,4% доброкачественных неоплазий, а в здоровой ткани железы – не выявлялась. Авторами отмечена четкая положительная корреляция между уровнем экспрессии COX-2 и sVEGF-C; оба фактора имели прямую зависимость с наличием метастатического поражения регионарных лимфатических узлов [18]. Другие авторы указывают на неблагоприятное прогностическое значение гиперэкспрессии COX-2, но не отмечают четкой зависимости между наличием фермента и интенсивностью образования новых сосудов в опухоли (индекс microvessel density), предполагая иной механизм активизации пролиферации клеток [30].

Данные о корреляции экспрессии COX-2 с неблагоприятными факторами прогноза у больных раком молочной железы неоднозначны: описана ассоциация экспрессии энзима с молодым возрастом пациенток, метастатическим поражением лимфатических узлов [18, 31, 32], большими размерами опухоли [4], 3 степенью анаплазии [33], гиперэкспрессией HER-2/neu [34]. Dillon M.F. и соав. изучили образцы опухолевой ткани 560 пациенток раком молочной железы, судьба которых прослежена в течение 10 лет. С помощью иммунофлюорисцентной и конфокальной микроскопии оценена экспрессия COX-2 и наличие гиперэкспрессии HER-2 в изученных образцах. Получены данные о положительной зависимости экспрессии COX-2 и HER-2 (как ядерной, так и мембранной) и корреляции этих тканевых маркеров с худшей безрецидивной выживаемостью пациенток [34]. В противоположность этому, в исследовании Thorat M.A. [30] отсутствовала зависимость COX-2 и таких факторов, как размер опухоли, статус аксиллярных лимфатических узлов, экспрессия рецепторов прогестерона и HER-2. Экспрессия COX-2 выявлена с помощью иммуногистохимического метода у 79% пациенток с раком молочной железы и четко коррелировала с гистологическим типом опухоли, 3-й степенью анаплазии и отрицательным статусом рецепторов эстрогенов в опухоли. Вне зависимости от корреляции факторов, все авторы отмечают неблагоприятную прогностическую роль наличия гиперэкспрессии COX-2 у больных раком молочной железы за счет увеличения риска возникновения рецидивов болезни, укорочения времени до прогрессирования болезни, снижения показателей общей и безрецидивной выживаемости и увеличения риска смерти от дальнейшего прогрессирования при COX-позитивных опухолях [30–34].

Рак молочной железы относится к злокачественным новообразованиям, чувствительным к большинству современных противоопухолевых лекарственных препаратов, однако, в ряде случаев наблюдается множественная лекарственная устойчивость, обусловленная наличием гена MDR1, кодирующего трансмембранный гликопротеин p-170 (P-gp), который препятствует внутриклеточному накоплению цитостатиков, в частности доксорубина [35]. Использование молекулярно-генетических методов позволило выявить четкую корреляцию между экспрессией COX-2 и нестабильностью генома в клетках рака молочной железы [36]. Кроме того, при экспрессии COX-2 наблюдается экспрессия Bcl 2 и отмечается устойчивость клеток к доксорубину, что способствует активному росту опухоли. Эти данные могут быть важны для выработки таргетного подхода в лечении больных с экспрессией COX-2 [37, 38].

Возможности использования COX-2 в качестве фактора риска возникновения рецидивов рака молочной железы представлена в работе Kulkarni S. и соав. [39]: риск рецидивирования при COX-позитивных опухолях достигает 67%, при COX-негативных опухолях – 24%. В исследовании

Zeeneldin A.A. гиперэкспрессия COX-2 представлена как фактор риска появления отдаленных висцеральных метастазов при раке молочной железы [40].

Таким образом, предварительные данные указывают на весомую роль циклооксигеназы в опухолевой трансформации и пролиферации клеток, резистентности к проводимому лекарственному лечению и негативному прогнозу онкологического заболевания [41, 42]. Представленные данные указывают на целесообразность выделения COX-позитивных опухолей в отдельную группу для оптимизации лечебной тактики и использования возможностей таргетного контроля экспрессии энзима.



ЛИТЕРАТУРА

1. Шварц Г.Я., Сюбаев Р.Д. Методические указания по изучению новых нестероидных противовоспалительных препаратов. //Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М. 2000. С. 234–241.
2. DeMaria A.N. NSAIDs, Coxibs and Cardio-Renal Physiology: A Mechanism-Based Evaluation. <http://www.medscape.com/>. 2002. February 22. Accessed 05 Jan. 2005.
3. Ko S.H., Choi G.J., Lee J.H. and all. Differential effects of selective cyclooxygenase-2 inhibitors in inhibiting proliferation and induction of apoptosis in oral squamous cell carcinoma. *Oncol Rep.* 2008. Feb. № 19 (2). P. 425–433.
4. Haffty B.G., Yang Q., Moran M.S. Estrogen-dependent prognostic significance of cyclooxygenase-2 expression in early-stage invasive breast cancers treated with breast-conserving surgery and radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2008. Jul. 15. № 71 (4). P. 1006–1013.
5. Horn L.C., Purz S., Krumpe C. COX-2 and Her-2-neu are overexpressed in Paget's disease of the vulva and the breast: results of a preliminary study. *Arch Gynecol Obstet.* 2008. Feb. № 277 (2). P. 135–138.
6. Wang X., Colby J.K., Yang P. The resistance to the tumor suppressive effects of COX inhibitors and COX-2 gene disruption in TRAMP mice is associated with the loss of COX expression in prostate tissue. *Carcinogenesis.* 2008. Jan. № 29 (1). P. 120–128. Epub. 2007. Oct, 17.
7. Болдарян Н.А. Прогностическое значение циклооксигеназы и муцинов при раке эндометрия. *Сибирский онкологический журнал.* 2008. Приложение № 1. С.18–19.
8. Насонов Е.Л. Специфические ингибиторы циклооксигеназы (ЦОГ)-2, решенные и нерешенные проблемы. *Клин. фармакол. и терап.* 2000. № 1. С. 57–64.
9. Hu M., Peluffo G., Chen H. Role of COX-2 in epithelial-stromal cell interactions and progression of ductal carcinoma in situ of the breast. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009. Mar. 3. № 106 (9). P. 3372–3377.
10. Markaverich B.M., Crowley J., Rodriguez M. and all. Tetrahydrofuranol stimulation of phospholipase A2, lipoxygenase, and cyclooxygenase gene expression and MCF-7 human breast cancer cell proliferation. *Environ Health Perspect.* 2007. Dec. № 115 (12). P. 1727–1731.
11. Farooqui M., Li Y., Rogers T., Poonawala T. Br J Cancer. COX-2 inhibitor celecoxib prevents chronic morphine-induced promotion of angiogenesis, tumour growth, metastasis and mortality, without compromising analgesia. 2007. Dec. № 97 (11). P. 1523–1531.
12. Zhang X.H., Huang D.P., Guo G.L. Coexpression of VEGF-C and COX-2 and its association with lymphangiogenesis in human breast cancer. *BMC Cancer.* 2008. Jan. 13. № 8. P. 4.
13. Lavallo G., Bertagnoli A., Tavares W. COX-2 expression in canine mammary carcinomas: correlation with angiogenesis (or microvessel density) and overall survival. *Vet Pathol.* 2009. Jul. 15.
14. Brown P.H., Subbaramaiah K., Salmon A.P. Combination chemoprevention of HER2-neu-induced breast cancer using a cyclooxygenase-2 inhibitor and a retinoid X receptor-selective retinoid. *Cancer Prev Res (Phila Pa).* 2008. Aug. № 1 (3). P. 208–214.
15. Subbaramaiah K., Hudis C., Chang S.H. EP2 and EP4 receptors regulate aromatase expression in human adipocytes and breast cancer cells. Evidence of a BRCA1 and p300 exchange. *J Biol Chem.* 2008. Feb. 8. № 283 (6). P. 3433–3444.



16. Subbaramaiah K., Benezra R., Hudis C. Cyclooxygenase-2-derived prostaglandin E2 stimulates Id-1 transcription. *J Biol Chem.* 2008. Dec. 5. № 283 (49). P. 33955–33968.
17. Kim S., Kim S.H., Hur S.M. Silibinin prevents TPA-induced MMP-9 expression by down-regulation of COX-2 in human breast cancer cells. *Ethnopharmacol.* 2009. Aug. 26.
18. Li E.X., Shi F., Wu Y.Y. The relationship between lymphatic metastasis and serum vascular endothelial growth factor C and cyclooxygenase 2 expression in breast cancer. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2008. Jan. 8. № 88 (2). P. 88–91.
19. Nieves-Alicea R., Colburn N.H., Simeone A.M. Programmed cell death 4 inhibits breast cancer cell invasion by increasing tissue inhibitor of metalloproteinases-2 expression. *Breast Cancer Res Treat.* 2009. Mar. № 114 (2). P. 203–209.
20. Visscher D.W., Pankratz V.S., Santisteban M. Association between cyclooxygenase-2 expression in atypical hyperplasia and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2008. Mar. 19. № 100 (6) P. 421–427.
21. Yang W.T., Lewis M.T., Hess K. Decreased TGFβ signaling and increased COX2 expression in high risk women with increased mammographic breast density. *Breast Cancer Res Treat.* 2009. Feb. 25.
22. Krcova Z., Ehrmann J., Krejci V. and all. Tpl-2/Cot and COX-2 in breast cancer. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2008. Jun. № 152 (1). P. 21–25.
23. Hardy D.B., Janowski B.A., Chen C.C. Progesterone receptor inhibits aromatase and inflammatory response pathways in breast cancer cells via ligand-dependent and ligand-independent mechanisms. *Mol Endocrinol.* 2008. Aug. № 22 (8). P. 1812–1824.
24. Lykkesfeldt A.E., Henriksen K.L., Rasmussen B.B. In situ aromatase expression in primary tumor is associated with estrogen receptor expression but is not predictive of response to endocrine therapy in advanced breast cancer. *BMC Cancer.* 2009. Jun. 16. № 9. P. 185.
25. Brueggemeier R.W., Su B., Sugimoto Y. Aromatase and COX in breast cancer: enzyme inhibitors and beyond. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2007. Aug-Sep. № 106 (1–5). P. 16–23.
26. Martinez-Campa C., González A., Mediavilla M.D. Melatonin inhibits aromatase promoter expression by regulating cyclooxygenases expression and activity in breast cancer cells. *Br J Cancer.* 2009. Sep. 22.
27. Su B., Tian R., Darby M.V. Novel sulfonanilide analogs decrease aromatase activity in breast cancer cells: synthesis, biological evaluation, and ligand-based pharmacophore identification. *J Med Chem.* 2008. Mar. 13. № 51 (5). P. 1126–1135.
28. Hu M., Peluffo G., Chen H. and all. Role of COX-2 in epithelial-stromal cell interactions and progression of ductal carcinoma in situ of the breast. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009. Mar. 3. № 106 (9). P. 3372–3377.
29. Salhab M., Singh-Ranger G., Mokbel R. and all. Cyclooxygenase-2 mRNA expression correlates with aromatase expression in human breast cancer. *J Surg Oncol.* 2007. Oct. 1. № 96 (5). P. 424–428.
30. Thorat M.A., Mehrotra S., Morimiya A. COX-2 expression does not correlate with microvessel density in breast cancer. *Pathobiology.* 2009. № 76 (1). P. 39–44.
31. Guo G.L., Yang G.L. The effect of cyclooxygenase-2 on lymphangiogenesis in breast cancer. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* 2008. Jan. 15. № 46 (2). P. 132–135.
32. Pan M.R., Hou M.F., Chang H.C. and al. Cyclooxygenase-2 up-regulates CCR7 via EP2/EP4 receptor signaling pathways to enhance lymphatic invasion of breast cancer cells. *J Biol Chem.* 2008. Apr. 25. № 283 (17). P. 11155–11163.
33. Nassar A., Radhakrishnan A., Cabrero I.A. COX-2 expression in invasive breast cancer: correlation with prognostic parameters and outcome. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2007. Sep. № 15 (3). P. 255–259.
34. Dillon M.F., Stafford A.T., Kelly G. and all. Cyclooxygenase-2 predicts adverse effects of tamoxifen: a possible mechanism of role for nuclear HER2 in breast cancer patients. *Endocr Relat Cancer.* 2008. Sep. № 15 (3). P. 745–753.
35. Zattelli M.C., Luchin A., Tagliati F. and all. Cyclooxygenase-2 inhibitors prevent the development of chemoresistance phenotype in a breast cancer cell line by inhibiting glycoprotein p-170 expression. *Endocr Relat Cancer.* 2007. Dec. № 14 (4). P. 1029–1038.
36. Singh B., Cook K.R., Vincent L. and all. Cyclooxygenase-2 induces genomic instability, BCL2 expression, doxorubicin resistance, and altered cancer-initiating cell phenotype in MCF7 breast cancer cells. *J Surg Res.* 2008. Jun. 15. № 147 (2). P. 240–246.
37. Howe L.R. Inflammation and breast cancer. Cyclooxygenase/prostaglandin signaling and breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2007. № 9 (4). 210 p.
38. Jo E.H., Kim S.H., Ahn N.S. Efficacy of sulforaphane is mediated by p38 MAP kinase and caspase-7 activations in ER-positive and COX-2-expressed human breast cancer cells. *Eur J Cancer Prev.* 2007. Dec. № 16 (6). P. 505–510.
39. Kulkarni S., Patil D.B., Diaz L.K. COX-2 and PPARγ expression are potential markers of recurrence risk in mammary duct carcinoma in-situ. *BMC Cancer.* 2008. Jan. 31. № 8. 36 p.
40. Zeeneldin A.A., Mohamed A.M., Abdel H.A. Survival effects of cyclooxygenase-2 and 12-lipoxygenase in Egyptian women with operable breast cancer. *Indian J Cancer.* 2009. Jan-Mar. № 46 (1). P. 54–60.
41. Harris R.E. Cyclooxygenase-2 (cox-2) blockade in the chemoprevention of cancers of the colon, breast, prostate, and lung. *Inflammopharmacology.* 2009. Apr. № 17 (2). P. 55–67.
42. Ferrandina G., Lauriola L., Zannoni M.G. et al. Increased Cyclooxygenase-2 Expression Is Associated With Chemotherapy Resistance and Poor Survival in Cervical Cancer Patients. *J. Clin. Oncol.* 2002. № 4. P. 973–981.