

艾瑞昔布联合5-氟尿嘧啶对裸鼠结肠癌移植瘤侵袭和转移的影响

孙会卿, 张淑凤, 王长武, 韩蕊蕊

郑州大学第五附属医院 消化内科, 河南 郑州 450052

摘要: **目的** 探讨艾瑞昔布联合5-氟尿嘧啶(5-Fu)对结肠癌HT-29细胞裸鼠移植瘤侵袭和转移的影响以及与环氧合酶-2(COX-2)、血管内皮生长因子-C(VEGF-C)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)的关系。**方法** 40只裸鼠构建人结肠癌HT-29细胞裸鼠皮下移植瘤模型,随机分为4组,每组10只,对照组(0.9% NaCl);艾瑞昔布组[100 mg/(kg d)];5-Fu组(20 mg/kg);联合用药组[艾瑞昔布100 mg/(kg d),5-Fu 20 mg/kg],艾瑞昔布ig给药,1次/d,5-Fu ip给药,每3天1次,连续给药14 d。实验结束时测量各组裸鼠瘤体大小,并计算抑瘤率;酶联免疫吸附试验(ELISA)检测COX-2、VEGF-C、MMP-9血清浓度,实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测COX-2、VEGF-C、MMP-9的mRNA表达,免疫组化法检测瘤体微血管密度(MVD),Western blotting法检测COX-2、VEGF-C、MMP-9蛋白表达。**结果** 艾瑞昔布组、5-Fu组、联合用药组与对照组比较,抑瘤效果显著,其中以联合用药组抑瘤效果最佳($P<0.05$)。艾瑞昔布组、5-Fu组、联合用药组较对照组裸鼠血清COX-2、VEGF-C、MMP-9浓度、瘤体COX-2、VEGF-C、MMP-9的mRNA和其蛋白表达、瘤体MVD均显著降低($P<0.05$),其中以联合用药组降低最显著($P<0.05$)。**结论** 艾瑞昔布联合5-Fu可协同抑制结肠癌裸鼠移植瘤侵袭和转移,增强5-Fu的抗肿瘤效果,其作用机制可能与下调COX-2、VEGF-C、MMP-9表达有关。

关键词: 艾瑞昔布; 5-氟尿嘧啶; 结肠癌; 环氧合酶-2; 血管内皮生长因子-C; 基质金属蛋白酶-9

中图分类号: R962 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2021)03-0435-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.03.003

Effects of ericoxib combined with fluorouracil on invasion and metastasis of colon cancer xenografts in nude mice

SUN Hui-qing, ZHANG Shu-feng, WANG Chang-wu, HAN Rui-rui

Department of Gastroenterology, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

Abstract: Objective To investigate the effect of ericoxib combined with fluorouracil on the invasion and metastasis of colon cancer HT-29 cells in nude mice, and with cyclooxygenase-2 (COX-2), vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C), matrix metalloprotein-9 (MMP-9) relationship. **Methods** Forty nude mice were used to construct a subcutaneous xenograft model of human colon cancer HT-29 cells in nude mice. Model nude mice were randomly divided into 4 groups, 10 mice in each group. Four groups were control group (0.9% NaCl), ericoxib group [ericoxib 100 mg/(kg.d)], fluorouracil group (5-Fu 20 mg/kg), and combination group [ericoxib 100 mg/(kg.d), 5-Fu 20 mg/kg]. Ericoxib was administered by intragastrically, once daily, 5-Fu was administered by intraperitoneal injection, once 3 days, continuous administration for 14 days. Tumor size were measured and of tumor inhibition rate were calculated at the end of the experiment. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect concentrations of COX-2, VEGF-C and MMP-9 in serum of nude mice. mRNA expression of COX-2, VEGF-C and MMP-9 were detected by Real-time quantitative PCR (Real-time PCR). MVD of tumor was detected by immunohistochemical method. COX-2, VEGF-C and MMP-9 protein expression were analyzed by Western blotting. **Results** Compared with the control group, the tumor inhibition effect of the ericoxib group, the fluorouracil group and the combination group were remarkable, and the anti-tumor effect was the best in the combination group ($P<0.05$). Compared with the control group, COX-2, VEGF-C, MMP-9 concentrations in serum, mRNA and protein expression of tumor COX-2, VEGF-C, MMP-9, tumor MVD of nude in the ericoxib group, fluorouracil group, and combination group were reduced. Among them, anti-tumor effect of the combination group was the most significant ($P<0.05$). **Conclusion** Ericoxib combined with fluorouracil can synergistically inhibit the invasion and metastasis of human colon cancer xenografts in nude mice, and enhance the anti-tumor effect of fluorouracil. The mechanism may be related to the down-regulation of COX-2, VEGF-C and MMP-9 expression.

Key words: imrecoxib; fluorouracil; colon cancer; cyclooxygenase-2; vascular endothelial growth factor-C; matrix metalloprotein-9

收稿日期: 2020-09-04

作者简介: 孙会卿(1978—),女,河南巩义人,硕士,主治医师,主要研究方向为消化内科胃肠疾病的诊治。E-mail: hdngf9@163.com

结肠癌为最常见的消化道恶性肿瘤之一，目前已升至癌症发病率的第 4 位，大部分患者就诊时已属于中晚期或已发生转移^[1]。结肠癌较高的死亡率与癌组织发生局部侵袭、淋巴道转移及远处转移密切相关^[2]。结肠癌的治疗目前是以手术为主的综合治疗，但复发率高，其主要原因是肿瘤血管新生导致的肿瘤向其他脏器组织侵袭、转移，预后差，化疗仍是治疗的重要手段，联合化疗可抑制结肠癌的复发、浸润及转移，提高患者生存率^[3]。目前主要采用以 5-氟尿嘧啶 (5-Fu) 为主的多药联合化疗方案，但化疗药物大多缺乏肿瘤细胞靶向性，具有严重的不反应，且疗效欠佳^[4]。如何在提高疗效的同时减少 5-Fu 的用量及其不良反应成为临床重点关注的问题^[5]。近年来研究表明，非甾体类抗炎药 (nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs) 能有效防治结肠癌等消化道肿瘤的发生和发展^[6-7]。选择性环氧酶-2 (COX-2) 抑制剂可以增强肿瘤细胞对多种化疗药物的敏感性，且有低毒价廉的特点^[8]。本研究通过使用选择性 COX-2 抑制剂艾瑞昔布与 5-Fu 联合作用于结肠癌移植瘤，观察艾瑞昔布能否增强 5-Fu 对其侵袭能力的抑制作用，为结肠癌的临床化疗方案提供更多的选择，为其应用于临床抗肿瘤提供实验和理论依据。

1 材料

艾瑞昔布片 (0.1 g/片) 购于江苏恒瑞医药股份有限公司 (批号 20180083); 5-Fu 注射液 (10 mL, 0.25 g/支) 购于上海旭东海普药业有限公司 (批号 20180411); 人结肠癌 HT-29 细胞购于中国科学院上海细胞生物学研究所; 3~4 周龄健康清洁级 BALB/c 雄性裸小鼠 60 只，体质量 (20±3) g，购于北京维通利华实验动物技术有限公司 [许可证号 SCXY-(京)-2018-0604]。兔抗鼠 COX-2、血管内皮生长因子-C (VEGF-C)、基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 多克隆抗体购于美国 ADL 公司，鼠抗人 CD34 多克隆抗体购于美国 CST 公司，ELISA 试剂盒购于南京建成生物工程研究所，SP 试剂盒等购于北京中杉金桥生物技术有限公司，qRT-PCR 试剂盒购于日本 TaKaRa 公司。

2 方法

2.1 裸鼠人结肠癌移植瘤模型构建

人结肠癌 HT-29 细胞采用 RPMI 1640 细胞培养基培养，取对数生长期 HT-29 细胞，调整细胞密度为 1×10^7 个/mL。0.2% 水合氯醛 ip 麻醉裸鼠，碘伏

液常规消毒，微量注射器在裸鼠颈背部皮下接种单细胞悬液 0.2 mL。裸鼠饲养于 SPF 环境，约 2 周后接种部位出现肿瘤结节，质地较硬，且肿瘤体积 $100 \sim 300 \text{ mm}^3$ ，即肿瘤直径在 7 mm 左右时为裸鼠结肠癌移植瘤模型造模成功。

2.2 实验分组及药物干预

裸鼠结肠癌荷瘤造模成功后按随机数字法分为 4 组，每组 10 只：对照组 (0.9% NaCl); 艾瑞昔布组 [100 mg/(kg d)]; 5-Fu 组 (20 mg/kg); 联合用药组 [艾瑞昔布 100 mg/(kg d), 5-Fu 20 mg/kg]。0.9% NaCl 和艾瑞昔布 ig 给药，1 次/d，5-Fu ip 给药，每 3 天 1 次，各组均连续给药 14 d，每天观察裸鼠的精神状态、饮食及活动状况、肿瘤的生长状况，实验结束时测量并记录裸鼠荷瘤的大小变化。

2.3 抑瘤率的计算及组织取材

28 d 后采取急性大失血法处死裸鼠，左心室采血 1~2 mL，3 000 r/min 离心 5 min，收取血清，-20 °C 保存备用。解剖剥取裸鼠肿瘤标本，游标卡尺测量瘤体最长径 (a) 和瘤体最短径 (b)，按照公式计算肿瘤的近似体积 (V): $V = a \times b^2 / 2$ 。计算抑瘤率。瘤体置于液氮冻存或 4% 多聚甲醛溶液固定以备用。

抑瘤率 = 1 - 实验组平均瘤质量 / 对照组平均瘤质量

2.4 ELISA 法检测各组裸鼠血清 COX-2、VEGF-C、MMP-9 浓度

取出保存备用上层血清 1 mL，参照 ELISA 检测试剂盒说明书操作步骤，检测各组裸鼠血清 COX-2、VEGF-C、MMP-9 水平。

2.5 Real-time PCR 法检测各组瘤体 COX-2、VEGF-C 和 MMP-9 的 mRNA 表达

取 100 mg 瘤体组织加入 Trizol 试剂，提取总 RNA，分析 RNA 纯度与浓度，严格按照试剂盒说明书操作。PCR 引物：COX-2 上游 5'-ATCAAATGAGATGGTGGGAAAATTGCC-3'，下游 5'-TGATCATCTCTGCATGAGTATCTC-3'；VEGF-C 上游 5'-CGCACTGAGAAGTCCAACAA-3'，下游 5'-AACTGCTTTCTCGGCTCTGT-3'；MMP-9 上游 5'-GAACATCACCTATCGGATCA-3'，下游 5'-CTGTA-GAGTCTCTCGTT-3'；GAPDH 上游 5'-AAGTCAACGGATTTGGTTCGC-3'，下游 5'-TTGATTTAGGAGGGATCTAG-3'。反应条件：94 °C 预变性 3 min，94 °C 变性 30 s，62 °C 退火 30 s，72 °C 延伸 1 min，35 次循环后 72 °C 延伸 5 min。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$

计算相对表达量。

2.6 免疫组化法检测各组瘤体微血管密度 (MVD)

采用 SP 法步骤进行操作^[5]。将瘤体制成石蜡切片, CD34 染色后呈黄棕色或黄褐色的单个内皮细胞或内皮细胞簇均可记为 1 个血管, MVD 定量分析先在低倍镜下选择确定微血管密集区“热点”标记, 以 200 倍视野高倍镜下计数平均微血管数记为 MVD。

2.7 Western blotting 检测各组瘤体 COX-2、VEGF-C、MMP-9 蛋白表达水平

取出瘤体组织 5 g, 加入 2 mL 细胞裂解液, 提取总蛋白, 测定蛋白质量浓度, 参照 Western blotting 检测步骤进行操作^[6]。蛋白样品 100 °C 沸水内变性 5 min, 配制 5% SDS-PAGE 浓缩胶, 分别加入 Marker 2 μ L 和 5 组蛋白样品 5 μ L, 连接电泳线, 电压 90 V, 行聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 采用湿转法将蛋白转移至醋酸纤维素 (PVDF) 膜, 加入一抗工作液 (1:1 000 稀释), 4 °C 冰箱孵育过夜。TBST 漂洗 PVDF 膜, 滴加羊抗兔 IgG (1:5 000 稀释), 37 °C 孵育 2 h。TBST 漂洗 PVDF 膜, ECL 显色, 以 GAPDH 为内参, 采用自动凝胶成像系统采集图像, 并利用 IPP 6.0 软件系统对目的条带进行扫描分析。

2.8 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件进行分析。符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析 (结果以 F 值表示), 组间多重比较采用 LSD- t

法 (结果以 t 值表示), 计数资料以计数和百分率表示, 采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组裸鼠一般情况及抑瘤率结果

40 只裸鼠均成瘤, 成瘤率 100%, 随着肿瘤形成并逐渐增大, 裸鼠一般情况变差, 消瘦, 进食饮水量减少, 活动减少。对照组、艾瑞昔布组、5-Fu 组、联合用药组裸鼠体质量分别为 (14.12 \pm 1.78)、(16.48 \pm 1.84)、(17.52 \pm 1.93)、(19.05 \pm 2.39) g, 各组间差异有统计学意义 ($F=10.730$, $P < 0.001$); 对照组、艾瑞昔布组、5-Fu 组、联合用药组裸鼠瘤体 V 分别为 (1 526 \pm 257)、(1 003 \pm 210)、(863 \pm 186)、(715 \pm 175) mm³, 各组间差异有统计学意义 ($F=28.421$, $P < 0.001$); 艾瑞昔布组、5-Fu 组、联合用药组抑瘤率分别为 (42.36 \pm 1.26)%、(54.82 \pm 2.10)%、(60.25 \pm 2.05)%, 各组间差异有统计学意义 ($F=15.441$, $P < 0.05$), 与对照组相比, 给药组大鼠瘤体生长受到明显抑制, 且联合用药组抑瘤效果最佳 ($P < 0.05$)。各组裸鼠存活率分别为 100%、60%、70%、90%, 差异有统计学意义 ($\chi^2=6.125$, $P=0.013$)。

3.2 各组裸鼠血清 COX-2、VEGF-C 和 MMP-9 浓度比较

艾瑞昔布组、5-Fu 组、联合用药组较对照组裸鼠血清 COX-2、VEGF-C 和 MMP-9 浓度均降低, 以联合用药组血清浓度降低最显著 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组裸鼠血清 COX-2、VEGF-C 和 MMP-9 浓度 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 The concentrations of COX-2, VEGF-C and MMP-9 in serum of nude mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	n/只	COX-2/(μ g·L ⁻¹)	VEGF-C/(μ g·L ⁻¹)	MMP-9/(μ g·L ⁻¹)
对照	—	10	2.121 \pm 0.239	3.330 \pm 0.350	3.311 \pm 0.281
艾瑞昔布	100	6	1.748 \pm 0.206*	2.455 \pm 0.149*	2.851 \pm 0.254*
5-Fu	20	7	1.455 \pm 0.151*	2.041 \pm 0.511*	2.586 \pm 0.211*
联合用药	100+20	9	0.886 \pm 0.124** Δ	1.553 \pm 0.107** Δ	1.968 \pm 0.168** Δ

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与艾瑞昔布组比较: # $P < 0.05$; 与 5-Fu 组比较: $\Delta P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs ericoxib group; $\Delta P < 0.05$ vs 5-Fu group

3.3 各组瘤体 COX-2、VEGF-C 和 MMP-9 的 mRNA 表达

艾瑞昔布组、5-Fu 组、联合用药组较对照组瘤体 COX-2、VEGF-C 和 MMP-9 的 mRNA 表达均降低, 以联合用药组降低最显著 ($P < 0.05$)。见表 2。

3.4 各组瘤体 MVD

CD34 表达定位于瘤体血管内皮细胞, 阳性反应

呈黄色或棕黄褐色。对照组、艾瑞昔布组、5-Fu 组、联合用药组瘤体的 MVD 计数 (每个视野) 分别为 (89.542 \pm 16.306)、(68.803 \pm 10.352)、(55.627 \pm 9.641)、(34.572 \pm 76.433) 个, 各组间差异有统计学意义 ($F=3.377$, $P < 0.05$), 其中艾瑞昔布组、5-Fu 组、联合用药组较对照组瘤体 MVD 均显著降低, 尤以联合用药组瘤体 MVD 最低 ($P < 0.05$), 见图 1。

表 2 各组裸鼠瘤体 COX-2、VEGF-C 和 MMP-9 mRNA 表达水平 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 The mRNA expression of COX-2, VEGF-C and MMP-9 in tumor tissue of nude mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	n/只	mRNA 相对表达量		
			COX-2	VEGF-C	MMP-9
对照	—	10	1.000	1.000	1.000
艾瑞昔布	100	6	0.732±0.040*	0.826±0.034*	0.807±0.031*
5-Fu	20	7	0.712±0.034*	0.784±0.035*	0.773±0.034*
联合用药	100+20	9	0.474±0.011**▲	0.433±0.032**▲	0.429±0.023**▲

与对照组比较: *P<0.05; 与艾瑞昔布组比较: #P<0.05; 与 5-Fu 组比较: ▲P<0.05
*P<0.05 vs control group; #P<0.05 vs ericcoxib group; ▲P<0.05 vs 5-Fu group

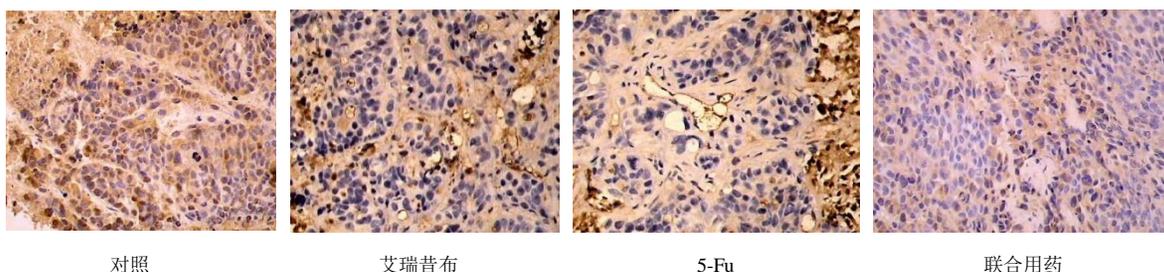


图 1 免疫组织化学染色法检测各组裸鼠瘤体 MVD (×200)

Fig. 1 Immunohistochemical staining for detection of tumor MVD in nude mice (×200)

3.5 各组瘤体 COX-2、VEGF-C 和 MMP-2 蛋白表达

艾瑞昔布组、5-Fu 组、联合用药组较对照组瘤体 COX-2、VEGF-C 和 MMP-9 蛋白表达均降低, 其中尤以联合用药组蛋白表达降低最显著 (P<0.05)。见图 2 和表 3。

4 讨论

联合用药是进一步提高肿瘤患者化疗疗效, 同时减少单药使用不良反应的抗肿瘤策略。

本研究结果表明艾瑞昔布组、5-Fu 组、联合用

药组较对照组瘤体均得到显著抑制, 以联合用药组抑瘤效果最佳。侵袭和转移是恶性肿瘤的主要生物学特性, 肿瘤的生长、浸润和转移有赖于肿瘤脉管和血管的生成和支持, 脉管系统在肿瘤侵袭过程中发挥重要作用^[9]。张德庆等^[10]研究发现塞来昔布联合 5-Fu 具有明显的协同抗肿瘤作用, 其作用机制可能不仅与塞来昔布具有协同抗肿瘤作用相关, 还可能涉及 5-Fu 通过基因水平的调控来进一步促进塞来昔布对 COX-2 表达的抑制, 进而促进肿瘤细胞凋亡。张庆等^[11]研究发现塞来昔布与 5-Fu 联合可增强 5-Fu 对结肠癌细胞增殖与侵袭的抑制能力, 促进细胞凋亡的作用机制可能与抑制 Bcl-2 和促进 Bax 的表达有关。

本研究结果显示艾瑞昔布组、5-Fu 组、联合用药组较对照组瘤体 COX-2、VEGF-C 和 MMP-2 的 mRNA 及蛋白表达均降低, 以联合用药组降低最显著。COX-2 与肿瘤发生发展的相关性一直是医学领域的研究热点。COX-2 是花生四烯酸 (AA) 合成前列腺素 (PGE) 的关键限速酶, 它能催化 AA 转变成炎症介质如 PGE 等, 从而抑制宿主的免疫应答、逃避对肿瘤细胞的免疫监视, 刺激肿瘤细胞生长^[12]。COX-2 过表达与结直肠癌的发生发展密切相关, 其通过合成致癌物质、促进肿瘤细胞增殖、抑

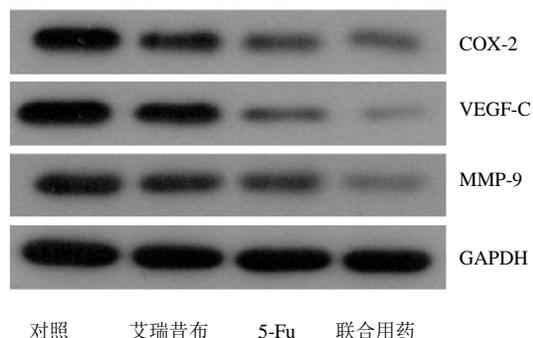


图 2 Western blotting 检测各组裸鼠瘤体 COX-2、VEGF-C 和 MMP-9 蛋白表达

Fig. 2 Western blotting analysis of COX-2, VEGF-C and MMP-9 protein expression in nude mice

表3 各组裸鼠瘤体 COX-2、VEGF-C 和 MMP-9 的蛋白表达水平
Table 3 The protein expression of COX-2, VEGF-C and MMP-9 in tumors of nude mice

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	n/只	蛋白相对表达量		
			COX-2	VEGF-C	MMP-9
对照	—	10	0.951±0.031	1.526±0.241	1.233±0.159
艾瑞昔布	100	6	0.783±0.027*	0.975±0.332*	0.965±0.108*
5-Fu	20	7	0.624±0.034*	0.856±0.147*	0.744±0.082*
联合用药	100+20	9	0.434±0.017*#▲	0.652±0.129*#▲	0.459±0.058*#▲

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与艾瑞昔布组比较: # $P < 0.05$; 与 5-Fu 组比较: ▲ $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs ericoxib group; ▲ $P < 0.05$ vs 5-Fu group

抑制肿瘤细胞凋亡、促进肿瘤血管新生和肿瘤细胞黏附与转移等多个环节促进肿瘤的发生发展、转移和复发^[13]。研究表明,选择性 COX-2 抑制剂对多种实体肿瘤包括对结肠癌的生长均有抑制作用,同时也可强化多种化疗药物对肿瘤的杀伤作用^[14]。艾瑞昔布是高选择性 COX-2 抑制剂,可抑制多种肿瘤细胞增殖,并增强放疗对肿瘤的杀伤作用,其药理作用更强且不良反应较少,能增强肿瘤细胞化疗敏感性,具有较好的耐受性,临床应用前景广泛^[15]。VEGF-C 作为重要的淋巴管生成因子,通过与其受体结合可诱导淋巴管形成,及内皮细胞的增殖和迁移,调控血管和淋巴管内皮的新生,刺激血管和淋巴管生成的双重作用,促进肿瘤细胞发生淋巴管及血管转移,对肿瘤的生长和转移起重要调节作用^[16]。MMP-9 是基质金属蛋白酶(MMPs)家族成员之一,能降解蛋白水解酶、细胞外基质(ECM)蛋白和基底膜,增强细胞与 ECM 的黏附能力,增加肿瘤细胞的侵袭力,在肿瘤血管生成、侵袭和转移过程中发挥关键性作用^[17]。同时 COX-2、VEGF-C、MMP-9 在结肠癌侵袭、转移的机制中起协同作用,三者的表达存在显著相关性,VEGF 的表达受到 COX-2、MMP-9 的调控^[18]。本研究结果也表明艾瑞昔布组、5-Fu 组、联合用药组较对照组血清 COX-2、VEGF-C、MMP-9 浓度、瘤体 COX-2、VEGF-C、MMP-9 的 mRNA 和蛋白表达、瘤体 MVD 均显著降低,其中以联合用药组降低最显著($P < 0.05$)。说明艾瑞昔布联合 5-Fu 可协同抑制人结肠癌裸鼠移植瘤侵袭和转移,增强 5-Fu 的抗肿瘤效果,其作用机制可能与其抑制下调 COX-2、VEGF-C、MMP-9 表达有关。

NSAIDs 类药物抗肿瘤的作用可能是以 COX-2 为作用靶点,艾瑞昔布联合 5-Fu 能够抑制人结肠癌裸鼠皮下移植瘤的侵袭和转移,其作用机制可能是

通过调控抑制 COX-2 酶活性,进而抑制下调 VEGF-C、MMP-9 表达有关,详细机制有待进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Liu Q, Luo D, An H, et al. Survival benefit of adjuvant chemotherapy for patients with poorly differentiated stage IIA colon cancer [J]. *J Cancer*, 2019, 10(5): 1209-1215.
- [2] Kim J E, Hong Y S, Kim H J, et al. Microsatellite instability was not associated with survival in stage iii colon cancer treated with adjuvant chemotherapy of oxaliplatin and infusional 5-fluorouracil and leucovorin (FOLFOX) [J]. *Ann Surg Oncol*, 2017, 24(5): 1289-1294.
- [3] Kuo C N, Pan J J, Huang Y W, et al. Association between nonsteroidal anti-inflammatory drugs and colorectal cancer: a population-based case-control study [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2018, 27(7): 737-745.
- [4] Li N N, Meng X S, Bao Y R, et al. Evidence for the involvement of COX-2/VEGF and PTEN/PI3K/AKT pathway the mechanism of oroxin B treated liver cancer [J]. *Pharmacogn Mag*, 2018, 14(54): 207-213.
- [5] 王磊, 陈卫昌, 谢学顺, 等. 塞来昔布对实验性结肠癌原位移植瘤生长及血管形成的影响 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2006, 13(17): 1295-1300.
- [6] 李涛, 王涛, 张锡朋. 艾迪注射液对结肠癌裸鼠移植瘤生长的抑制作用及对 COX-2、VEGF、MMP-9 蛋白表达的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33(16): 3911-3912.
- [7] 裴书飞, 张向东, 卢万里, 等. 塞来昔布上调 Cyclin D1 基因甲基化水平对食管癌细胞增殖和凋亡的抑制作用 [J]. *现代药物与临床*, 2020, 35(6): 1057-1063.
- [8] Mondaca S, Villalón C, Leal J L, et al. Benefit of adjuvant 5-fluorouracil based chemotherapy for colon cancer: a retrospective cohort study [J]. *Rev Med Chil*, 2016, 144(2): 145-151.
- [9] Stylianopoulos T, Munn L L, Jain R K. Reengineering the

- tumor vasculature:improving drug delivery and efficacy [J]. *Trends Cancer*, 2018, 4(4): 258-259.
- [10] 张德庆, 祝建红, 陈卫昌. 塞来昔布联合 5-Fu 抑制裸鼠结肠癌生长及其机制的探讨 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2013, 20(1): 15-20.
- [11] 张庆, 龙跃平, 杜寒松, 等. 塞来昔布增强氟尿嘧啶对人结肠癌细胞 SW480 增殖与侵袭的抑制作用 [J]. *华中科技大学学报: 医学版*, 2013, 42(5): 525-529.
- [12] Owczarek K, Hrabec E, Fichna J, *et al.* Flavanols from Japanese quince (*Chaenomeles japonica*) fruit suppress expression of cyclooxygenase-2, metalloproteinase-9, and nuclear factor-kappaB in human colon cancer cells [J]. *Acta Biochim Pol*, 2017, 64(3): 567-576.
- [13] Gungor H, Ilhan N, Eroksuz H. The effectiveness of cyclooxygenase-2 inhibitors and evaluation of angiogenesis in the model of experimental colorectal cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 102: 221-229.
- [14] Benelli R, Venè R, Ferrari N. Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (cyclooxygenase-2), a complex target for colorectal cancer prevention and therapy [J]. *Transl Res*, 2018, 196: 42-61.
- [15] 王玲婵, 崔立静, 王东昌, 等. 艾瑞昔布抑制肺腺癌 A549 细胞裸鼠移植瘤侵袭和转移及其机制 [J]. *中国癌症杂志*, 2017, 27(1): 1-6.
- [16] 欧玉荣, 于东红, 刘德纯, 等. COX-2 与 VEGF-C 在大肠癌中的表达及与预后的关系 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2008, 17(4): 320-323.
- [17] Koslowsky D, Zaretsky M, Alcalay R, *et al.* A bi-specific inhibitor targeting IL-17A and MMP-9 reduces invasion and motility in MDA-MB-231 cells [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(47): 28500-28513.
- [18] 仝林虎, 田静, 张玲玲, 等. COX-2 和 VEGF-C 在大肠癌中的表达及其临床意义 [J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2011, 18(3): 218-221.

[责任编辑 刘东博]