

Экспрессия 15-PGDH в клетках рака молочной железы

М.А. Таипов, З.Н. Никифорова, О.М. Павлова, И.А. Кудрявцев, Н.Е. Арноцкая, В.Е. Шевченко
ФБГУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Контакты: Марат Азатович Таипов taipoff.m@yandex.ru

В данной работе проведен анализ экспрессии гена 15-PGDH в линиях клеток рака молочной железы (РМЖ) человека. В результате описаны молекулярные принципы, посредством которых в опухолевых клетках с разным потенциалом к метастазированию регулируется экспрессия фермента 15-PGDH. Выявлена обратная корреляция экспрессии гена 15-PGDH с экспрессией COX-2 и потенциалом опухолевых клеток к метастазированию. Исследование механизмов регуляции 15-PGDH открывает новые пути и возможности для создания эффективных препаратов направленной терапии для лечения метастатических форм РМЖ.

Ключевые слова: рак молочной железы, COX-1, COX-2, 15-PGDH, прогностический маркер рака молочной железы, ингибиторы COX-2, PGE2, линии опухолевых клеток молочной железы человека MCF-7, BT-474, ZR-75-1, мишень для направленной терапии

15-PGDH expression in breast cancer cells

M.A. Taipov, Z.N. Nikiforova, O.M. Pavlova, I.A. Kudryavtsev, N.Ye. Arnotskaya, V.Ye. Shevchenko
N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

This paper analyzes 15-PGDH gene expression in the human breast cancer (BC) cell lines and describes the molecular principles through which the expression of the enzyme 15-PGDH is controlled in the tumor cells with a varying metastatic potential. There is an inverse correlation of 15-PGDH gene expression with COX-2 expression and the metastatic potential of tumor cells. Investigation of mechanisms for 15-PGDH regulation opens up new vistas and possibilities for the design of effective drugs for the targeted therapy of metastatic forms of BC.

Key words: breast cancer, COX-1, COX-2, 15-PGDH, predictive marker for breast cancer, COX-2 inhibitors, PGE2, MCF-7, BT-474, and ZR-75-1 human breast tumor cell lines, targeted therapy goal

Рак молочной железы (РМЖ) — наиболее распространенная форма онкологических заболеваний у женщин в мире [1, 2]. Это важнейшая медицинская и социальная проблема современного общества. Одной из основных причин высокой смертности больных является позднее выявление РМЖ. Метастатический РМЖ все еще остается инкурабельным заболеванием. В связи с этим актуальной задачей является исследование молекулярных механизмов метастазирования, конечной целью которого должно стать создание новых препаратов направленного действия в лечении РМЖ. В последнее 10-летие благодаря развитию и внедрению в практику новых технологий значительный успех достигнут в идентификации генетических нарушений, которые ведут к развитию РМЖ. Известно, что простагландин E_2 (PGE_2) стимулирует рост опухолевых клеток, а фермент циклооксигеназа-2 (COX-2), регулирующий его синтез, часто избыточно экспрессируется в ткани РМЖ [3]. Протеин 15-гидроксипростагландин дегидрогеназа (15-PGDH) — ключевой фермент катаболизма PGE_2 — является супрессором опухолевого роста и подавляет способность клеток к метастазированию. Мало данных о роли гена 15-PGDH в патогенезе РМЖ. По данным I. Wolf et al., обнаружены низкие концентрации данного фермента в линиях клеток РМЖ с высоким потенциалом к метастазированию (ВПМ) в сравнении с нормальной тка-

нью молочной железы (МЖ) [4]. Анализ экспрессии 15-PGDH показал снижение его уровня в 40 % случаев первичного РМЖ и выявил корреляцию между низкой экспрессией 15-PGDH и гормональным рецепторным статусом опухоли [5]. Опыты с трансфекцией гена 15-PGDH в клетки РМЖ, не синтезирующие в норме фермент 15-PGDH, показали, что экспрессия трансфицированного гена 15-PGDH приводит к снижению клонального роста и значительно снижает способность этих клеток к метастазированию. Блокирование гена 15-PGDH в линии MCF-7 в опытах привело к усиленной пролиферации, значительно возросла способность клеток РМЖ образовывать метастазы опухоли у бестимусных мышей. В ряде исследований показано, что 15-PGDH значительно ингибирует эстроген-зависимый сигнальный каскад, стимулируя экспрессию ароматазы [6]. Тем не менее недостаточно известна роль 15-PGDH в регуляции экспрессии гена COX-2 в клетках РМЖ. В представленной работе определены уровни экспрессии генов 15-PGDH, COX-1, COX-2 в опухолевых клетках эстроген-позитивных линий МЖ человека с различным метастатическим потенциалом MCF-7, BT-474, ZR-75-1.

В данной работе проведен анализ экспрессии гена 15-PGDH в зависимости от потенциала опухолевых клеток к метастазированию, выявлены молекулярные механизмы регуляции синтеза фермента

15-PGDH в клетках РМЖ. На основании наших собственных результатов и данных других исследователей мы показали, что 15-PGDH является новым супрессором опухолевого роста и метастазирования.

Материалы и методы

Работа с культурой клеток. Изучали эстроген-положительные линии клеток аденокарциномы (MCF-7, ZR-75-1) и инфильтрирующей (инвазивной) протоковой карциномы (BT-474) МЖ человека из коллекции клеточных культур Института цитологии РАН. Культуры опухолевых клеток различались между собой по метастатической активности: линии MCF-7 (клетки с низким потенциалом к метастазированию), ZR-75-1 и BT-474 (клетки с ВПМ).

Условия культивирования. Все линии культивировали при 37 °C и 5 % CO₂. Линию MCF-7 культивировали в среде DMEM с 10 % эмбриональной телячьей сывороткой (ЭТС) и гентамицином (50 мкг/мл); ZR-75-1 – в RPMI-1640 с 10 % ЭТС, пенициллином (100 ед/мл) и стрептомицином (100 мкг/мл); BT-474 – в RPMI-1640 с 10 % ЭТС, пенициллином (100 ед/мл) и стрептомицином (100 мкг/мл), бычьим инсулином (10 мкг/мл).

Выделение РНК из клеток. Выделение РНК проводили с помощью коммерческого кита Perfect Pure RNA Cell and Tissue kit на 50 выделений (5PRIME). Для выделения РНК брали количество клеток 1×10^6 . Выделенные образцы хранили при температуре –80 °C.

Определение концентрации РНК. Измерения концентрации ДНК и РНК в пробах были проведены на спектрофотометре NanoDrop ND-1000 (Thermo Scientific) с помощью программы NanoDrop ND-1000. Для высокоочищенной РНК соотношение A_{260}/A_{280} составляло 1,8–2,1.

Праймеры для анализа экспрессии гена *15-PGDH* были разработаны с использованием Primer Express

версии 1.0, компьютерных программ Applied Biosystems, Foster City, CA [7] (таблица).

Метод полимеразной цепной реакции в реальном времени (RT-PCR). Обратную транскрипцию проводили по стандартному протоколу (Promega) с использованием фермента Reverse transcriptase (Promega). Экспрессию генов изучали с помощью метода RT-PCR с использованием системы iQ5 (Bio-Rad) и «Набора для анализа экспрессии генов методом RT-PCR COX-2 и COX-1» («ДНК-Синтез»), 15-PGDH («Синтол»). В качестве внутреннего стандарта использовали ген *β-actin*. Результаты анализировали с использованием программного обеспечения iQ5 Optical System Software (Bio-Rad). В серии опытов получена хорошая воспроизводимость результатов, ошибка измерения составила ~ 2 %.

Результаты

Исследовали экспрессию гена *15-PGDH* в клетках РМЖ с разным потенциалом к метастазированию. Проанализировали уровни ядерной РНК – предшественника функциональной матричной РНК 15-PGDH hnRNA, синтезируемой в ядре клетки (рис. 1). Максимальный среди исследуемых линий опухолевых клеток уровень экспрессии 15-PGDH hnRNA наблюдался в клетках линии BT-474, обладающей наибольшим потенциалом к метастазированию (см. рис. 1). Экспрессия 15-PGDH hnRNA в линии BT-474 была в 7 раз выше, чем в MCF-7 и ZR-75-1. В работе проанализирован уровень функциональной цитоплазматической матричной РНК (functional 15-PGDH mRNA), по которой оценивалась активность синтеза белка 15-PGDH на рибосомах (рис. 2). В результате показано, что наибольшая экспрессия functional 15-PGDH mRNA наблюдается в линии MCF-7, а наименьший уровень экспрессии обнаружен в линии BT-474 (см. рис. 2). Причем в линии MCF-7 экспрессия functional 15-PGDH mRNA была

Праймеры для анализа экспрессии генов *15-PGDH* и *β-actin*

№	Название праймера	Forward primer (5'–3')	Reverse primer (5'–3')
1	15-PGDH hnRNA	ATTGTTTGTCGGTCTATTTCGTGA	GCGCTAC ^c CTATAGACAAGAGGAGAG
2	Total 15-PGDH mRNA	GCAACAAC ^a TGAGAG ^β ACACTTTTAGAAA	AAATGTCCAGTCTTCCAAAGTGGT
3	Functional 15-PGDH mRNA	TGGAATTTTGGAC ^c CCCACCAT	TCATCTTCAATGAGTGTTATCAATCCAT
4	Variant1 15-PGDH mRNA	TCAGCAGC ^d GCCCACCAT	TCATCTTCAATGAGTGTTATCAATCCAT
5	Variant2 15-PGDH mRNA	TCATCTTTAGCAG ^e CCCACCAT	TCATCTTCAATGAGTGTTATCAATCCAT
6	β-actin mRNA	GGCCGCGGTGTACGCCAACACAGTGCTC	CCCGGGGCCGTCATACTCCTGCTTGCTG

Примечание. ^a – intron 1 – exon 2 junction in the 15-PGDH hnRNA primers; ^β – exon 2–3 junction in the total 15-PGDH mRNA primers; ^c – exon 6–7 junction in the functional 15-PGDH mRNA primers; ^d – exon 5–7 junction in the variant 1 15-PGDH mRNA primers; ^e – exon 4–7 junction in the variant 2 15-PGDH mRNA primers.

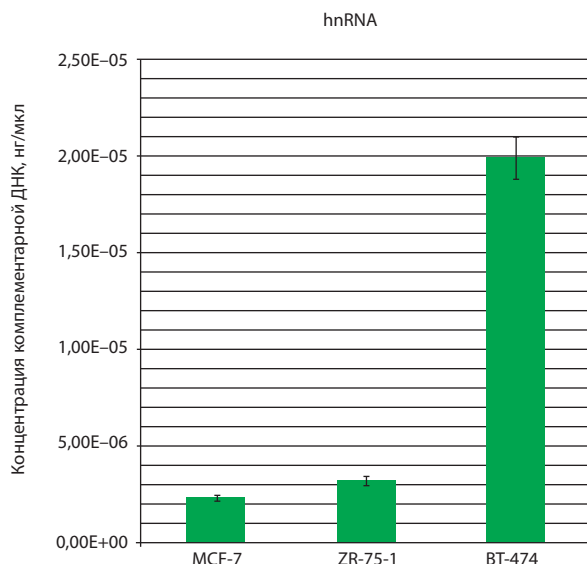


Рис. 1. Сравнительный анализ уровня экспрессии ядерной РНК — предшественника матричной РНК 15-PGDH hnRNA в опухолевых клетках линий MCF-7, ZR-75-1, BT-474

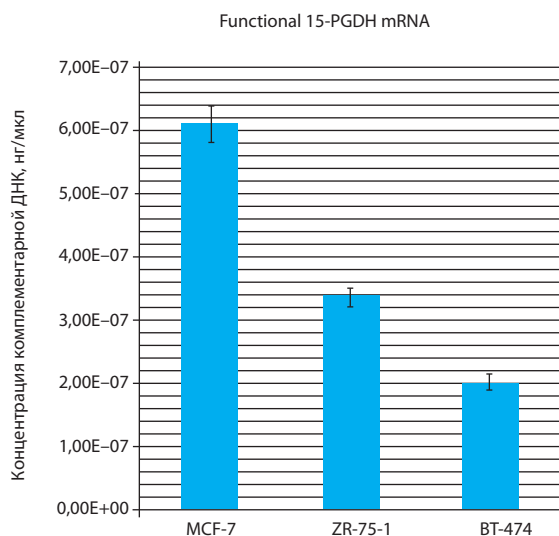


Рис. 2. Сравнительный анализ уровня экспрессии functional 15-PGDH mRNA в опухолевых клетках линий MCF-7, ZR-75-1, BT-474

в 3 и 2 раза выше, чем в BT-474 и ZR-75-1 соответственно.

Анализировали уровни экспрессии 2 регуляторных матричных РНК, образующихся в процессе альтернативного сплайсинга из предшественника матричной РНК, — variant 1 15-PGDH mRNA (рис. 3) и variant 2 15-PGDH mRNA (рис. 4). Показано, что экспрессия variant 1 15-PGDH mRNA максимальна в линии клеток, обладающих наименьшим потенциалом к метастазированию, MCF-7; а в ZR-75-1 ее уровни оказались ниже на 35 %, в клетках линии BT-474 уровни были на 86 % ниже, чем в MCF-7 (см. рис. 3). Экспрессия variant 2 15-PGDH mRNA оказалась максимальной в линии, обладающей наименьшим потенциалом

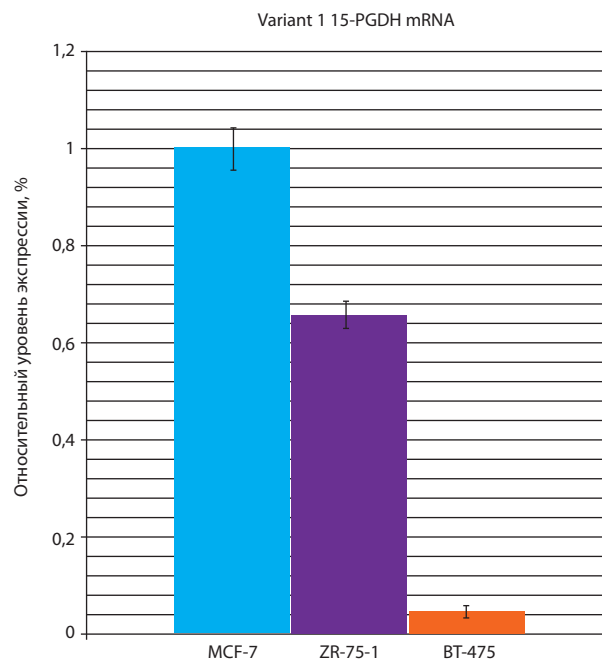


Рис. 3. Сравнительный анализ относительного уровня экспрессии variant 1 15-PGDH mRNA в опухолевых клетках линий MCF-7, ZR-75-1, BT-474

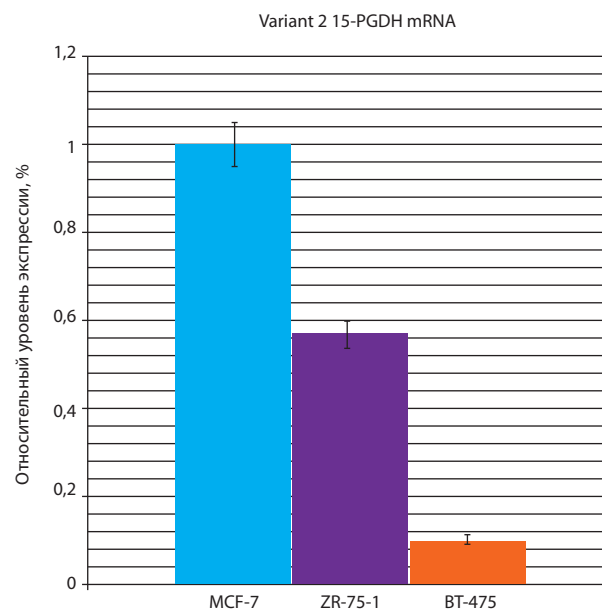


Рис. 4. Сравнительный анализ относительного уровня экспрессии variant 2 15-PGDH mRNA в опухолевых клетках линий MCF-7, ZR-75-1, BT-474

к метастазированию, MCF-7. В линии ZR-75-1 уровни variant 2 15-PGDH mRNA оказались ниже на 44 %, а в линии клеток с максимальным потенциалом к метастазированию BT-474 уровни были на 82 % ниже, чем в MCF-7 (см. рис. 4). В данной работе мы проанализировали экспрессию общей суммарной цитоплазматической матричной РНК (total 15-PGDH mRNA). В результате выяснили, что уровни ее экс-

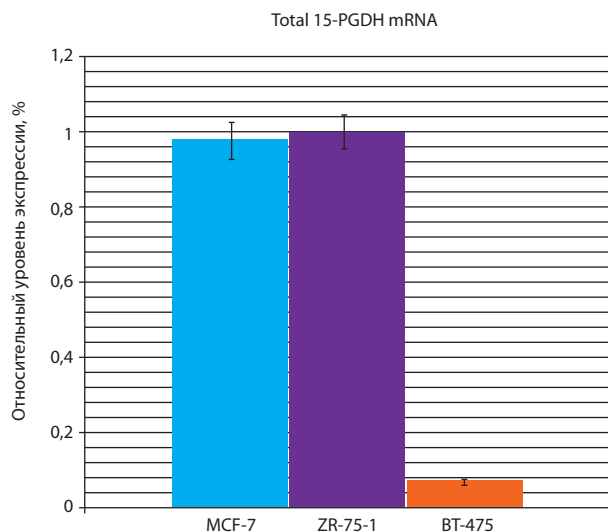


Рис. 5. Сравнительный анализ относительного уровня экспрессии total 15-PGDH mRNA в опухолевых клетках линий MCF-7, ZR-75-1, BT-474

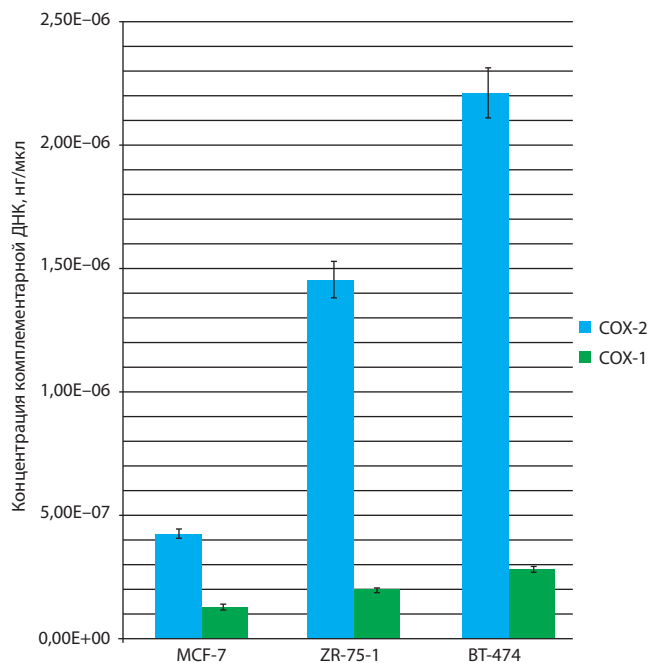


Рис. 6. Сравнительный анализ экспрессии генов COX-1 и COX-2 в опухолевых клетках линий MCF-7, ZR-75-1, BT-474

прессии статистически не различаются в линиях MCF-7 и ZR-75-1, но достоверно выше (в 12,5 раза), чем в линии BT-474 (рис. 5). Таким образом, на основании данных об экспрессии различных РНК мы анализировали активность гена *15-PGDH* в клетках РМЖ с разным потенциалом к метастазированию.

В данной работе исследовали экспрессию генов *COX-1* и *COX-2* в клетках РМЖ с разным потенциалом к метастазированию. Обнаружено, что в линии BT-474 экспрессия *COX-2* в 5 раз выше, чем в линии MCF-7 (рис. 6). В линии ZR-75-1 экспрессия *COX-2* в 3,5 раза выше, чем в линии MCF-7 (см. рис. 6). Анализ экс-

прессии гена *COX-1* показал, что его активность в линии BT-474 в 3 раза, а в ZR-75-1 в 2 раза выше, чем в линии MCF-7 (см. рис. 6)

Обсуждение

В данной работе были проанализированы уровни предшественника матричной РНК 15-PGDH hnRNA, синтезируемого в ядре клетки (см. рис. 1). Известно, что предшественник матричной РНК 15-PGDH hnRNA является предшественником зрелой functional 15-PGDH mRNA, а уровень 15-PGDH hnRNA служит мерой активности гена *15-PGDH* в свежей ткани. Мы обнаружили, что среди исследуемых линий максимальный уровень экспрессии 15-PGDH hnRNA наблюдался в линии BT-474, обладающей наибольшим потенциалом к метастазированию (см. рис. 1). Концентрация 15-PGDH hnRNA в линии BT-474 была в 7 раз выше, чем в MCF-7 и ZR-75-1. Это указывает на то, что ген *15-PGDH* активен в линии опухолевых клеток с ВПМ BT-474. Однако даже при высоких концентрациях ядерного предшественника 15-PGDH hnRNA экспрессия functional 15-PGDH mRNA, отвечающей за синтез белка на рибосомах, подавлена, следовательно, синтез белка 15-PGDH не происходит (см. рис. 2). Причем обнаружено, что уровни total 15-PGDH mRNA в линии BT-474 в 12,5 раза ниже, чем в линиях MCF-7 и ZR-75-1 (см. рис. 5). Таким образом, очевидно, что синтез фермента 15-PGDH в линии BT-474 заблокирован на уровне процессинга ядерного незрелого предшественника матричной РНК, который в большом количестве накапливается в ядре клетки, однако он не созревает в функционально зрелую матричную молекулу РНК, с которой считывается (транслируется) белок 15-PGDH. Очевидно, что синтез фермента 15-PGDH не происходит, так как заблокирован один из этапов процессинга матричной РНК: кэпирование, сплайсинг или полиаденилирование. Ген *15-PGDH*, работая по принципу обратной связи, продолжает нарабатывать большое количество 15-PGDH hnRNA, которая не подвергается процессингу и в результате накапливается в ядре клетки в большом количестве. Functional 15-PGDH mRNA быстро разрушается в цитоплазме опухолевой клетки, и уровень ее снижается. Таким образом, проанализировав суммарную экспрессию functional 15-PGDH mRNA в клетках линий MCF-7, ZR-75-1, BT-474, мы пришли к выводу, что потенциальная способность синтезировать фермент 15-PGDH в популяции клеток линии BT-474, обладающих наибольшим потенциалом к метастазированию, достоверно снижается в сравнении с линией MCF-7, обладающей низкой метастатической активностью (см. рис. 5).

В данной работе показано, что экспрессия functional 15-PGDH mRNA уменьшается с увеличени-

ем метастатического потенциала опухолевых клеток (см. рис. 2).

В работе проанализирована экспрессия генов *COX-1* и *COX-2* в клетках с разным потенциалом к метастазированию и показано, что уровни их активности обратно пропорциональны экспрессии functional 15-PGDH mRNA (см. рис. 6).

По данным современной литературы, фермент 15-PGDH активно вовлечен в процесс регуляции метастатической активности клеток РМЖ, однако механизм участия 15-PGDH в метастазировании и роль этого белка в супрессии различных прометастатических сигнальных путей в клетке до конца не выяснены. Белок 15-PGDH рассматривается как физиологический антагонист COX-2 и активный супрессор опухолевого роста [8]. Известно, что PGE₂ стимулирует рост опухолевых клеток, его синтез регулируется COX-2, COX-1 и 15-PGDH [9]. Фермент COX-2 играет ключевую роль в биосинтезе PGE₂, который стимулирует пролиферативную активность и инвазивные свойства опухолевых клеток, их устойчивость к апоптозу и метастазирование в отдаленные органы, также ускоряет ангиогенез в опухоли. Показано, что высокие дозы селективных ингибиторов COX-2 могут снизить риск рецидивирования РМЖ [10]. По данным V. Ashok et al., фермент COX-2 связан с метастазированием РМЖ [11]. В недавно опубликованном исследовании M. H. Cho et al. указано на статистически значимое увеличение 8-летнего риска развития инвазивного РМЖ у женщин с протоковой карциномой *in situ*, у которых опухоли одновременно экспрессировали COX-2, p16 и Ki-67. Выявлена прямая связь между экспрессией COX-2 и HER-2 в клетках опухоли протоковой карциномы [12].

PGE₂ подвергается метаболической инактивации под действием 15-PGDH. Супрессорная роль в регуляции опухолевого роста 15-PGDH обнаруживается в опытах на различных клеточных линиях [13]. Оптимальная экспрессия 15-PGDH вносит свой вклад в подавление злокачественного фенотипа опухоли. Трансфекция гена *15-PGDH* у мышей приводит к замедлению роста опухоли ксенотрансплантата. Этот фермент подавляет ангиогенез и инвазию опухоли путем модуляции PGE₂. Кроме того, гиперэкспрессия 15-PGDH ускоряет индукцию апоптоза с помощью протеолитического расщепления прокаспазы-3 и поли(АДФ-рибозо)полимеразы в опухолевых клетках. Фермент 15-PGDH играет важную роль в регуляции местного противоопухолевого иммунного ответа [14]. Введение гена *15-PGDH* в опухолевые клетки существенно уменьшает секрецию PGE₂ и иммуносупрессивных цитокинов: ИЛ-10, ИЛ-13, ИЛ-6. Экспрессия 15-PGDH также влияет на чувствительность опухолевых клеток к химиотерапевтическим агентам. N. Wakimoto et al. показали, что ингибиторы 15-PGDH

вызывают ослабление антипролиферативного эффекта нестероидных противовоспалительных препаратов [15]. Аденовирусная вектор-опосредованная гиперэкспрессия гена *15-PGDH* значительно ингибирует рост клеток РМЖ и рака толстой кишки в ксенотрансплантатах бестимусных голых мышей [16]. В эксперименте на животных было показано, что противоопухолевый эффект 15-PGDH при использовании генной терапии возрастал при одновременном применении препарата авастин — ингибитора ангиогенеза [17]. Химиотерапевтическая активность, вызываемая цецекоксибом, требует сопутствующей экспрессии 15-PGDH, а снижение ее уровня придает опухолевым клеткам устойчивость к селективным ингибиторам COX-2 [18].

О роли фермента 15-PGDH в патогенезе РМЖ известно мало, однако в нашей работе экспериментально показано, что экспрессия фермента 15-PGDH снижена в клетках с ВПМ линии BT-474. В линии опухолевых клеток MCF-7, обладающей низким потенциалом к метастазированию, экспериментально определяются высокие уровни 15-PGDH. Опыты других исследователей показали, что искусственная стимуляция экспрессии гена *15-PGDH* в клетках линии MDA-MB-231 приводит к снижению клонального роста и значительно уменьшает способность клеток к метастазированию у бестимусных мышей [19]. Блокирование гена *15-PGDH* в клетках линии MCF-7 посредством малых интерферирующих РНК стимулировало рост клеток, возрастало количество делящихся клеток, увеличивалась их подвижность и возрастала метастатическая активность опухоли. Искусственное подавление экспрессии 15-PGDH в линии MCF-7 приводило к активации деления клеток и повышению туморогенности в естественных условиях [19]. Результаты различных экспериментов показывают, что 15-PGDH является супрессором опухолевого роста и может модулировать путь эстрогена в клетках РМЖ. Стимуляция экспрессии 15-PGDH тормозит пути эстрогена и стимулирует экспрессию ароматазы [20]. Гиперэкспрессия 15-PGDH подавляет экспериментально индуцированный канцерогенез и делает раковые или трансформированные клетки чувствительными к апоптозу [15]. Недавние исследования показали, что подавление экспрессии гена *15-PGDH* наблюдается в некоторых опухолевых клетках, что связано с эпигенетическими модификациями, такими как метилирование ДНК и деацетилирование гистонов в промоторной области гена *15-PGDH*. Различные соединения способны вызывать гиперэкспрессию 15-PGDH — это ингибиторы деацетилазы гистонов, нестероидные противовоспалительные препараты, а также активатор пролиферации пероксисом, агонисты гамма-рецепторов. Хотя большинство исследований доказывают подавляющее влияние 15-PGDH на рост опухоли, однако высокие уровни экспрессии

15-PGDH и COX-2 наблюдались в злокачественной, а также нормальной ткани яичников [21]. Повышение экспрессии 15-PGDH в экспериментах вызывали некоторые цитокины, половые гормоны и опухолевые промоторы (форбол 12-миристинат-13-ацетат), предполагается возможность участия 15-PGDH в канцерогенных процессах при РМЖ. В данной работе мы обнаружили, что экспрессия фермента 15-PGDH обратно пропорциональна метастатическому потенциалу опухолевых клеток и экспрессии генов *COX-1* и *COX-2*.

Таким образом, исследования с использованием различных клеточных линий и экспериментальных животных обеспечивают основу понимания роли 15-PGDH как супрессора опухолевого роста [22]. Обнаружено нарушение регуляции 15-PGDH как на уровне синтеза матричной РНК, так и на уровне работы самого фермента в различных злокачественных опухолях человека [23]. Уровень экспрессии

15-PGDH высок в нормальной ткани по сравнению со злокачественной тканью опухоли МЖ, толстой кишки, желудка, легких, кожи, почек, тонкой кишки, поджелудочной железы и печени [24]. Генетические нарушения 15-PGDH блокируют образование метаболитов PGE₂. Вероятно, что инактивация гена *15-PGDH* значительно повышает риск развития РМЖ [25].

Заключение

В данной работе проведен анализ экспрессии гена *15-PGDH* в зависимости от потенциала опухолевых клеток к метастазированию, выявлены молекулярные механизмы регуляции синтеза фермента 15-PGDH в клетках РМЖ. На основании наших собственных результатов и данных других исследователей мы показали, что *15-PGDH* является новым супрессором опухолевого роста и регулирует метастатический потенциал клеток РМЖ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксель Е.М., Давыдов М.И. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ в 2008 г. Вестн РОНЦ 2010;21(2 прил 1):52–86.
2. Greenlee R.T., Murray T., Bolden S., Wingo P.A. Cancer statistics, 2000. CA Cancer J Clin 2000;50(1):7–33.
3. Lin F., Luo J., Gao W. et al. COX-2 promotes breast cancer cell radioresistance via p38/MAPK-mediated cellular anti-apoptosis and invasiveness. Tumour Biol 2013;34(5):2817–26.
4. Wolf I., O'Kelly J., Rubinek T. et al. 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase is a tumor suppressor of human breast cancer. Cancer Res 2006;66(15):7818–23.
5. Zhang B., Ma X., Li Z. et al. Celecoxib enhances the efficacy of 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase gene therapy in treating murine breast cancer. J Cancer Res Clin Oncol 2013;139(5):797–807.
6. Lehtinen L., Vainio P., Wikman H. et al. 15-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase associates with poor prognosis in breast cancer, induces epithelial-mesenchymal transition, and promotes cell migration in cultured breast cancer cells. J Pathol 2012;226(4):674–86.
7. Johnson R.F., Mitchell C.M., Clifton V., Zakar T. Regulation of 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (PGDH) gene activity, messenger ribonucleic acid processing, and protein abundance in the human chorion in late gestation and labor. J Clin Endocrinol Metab 2004;89(11):5639–48.
8. Bai J.W., Wang Z., Gui S.B., Zhang Y.Z. Loss of 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase indicates a tumor suppressor role in pituitary adenomas. Oncol Rep 2012;28(2):714–20.
9. Miyoshi J., Yajima T., Shimamura K. et al. 5-aminosalicylic acid mediates expression of cyclooxygenase-2 and 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase to suppress colorectal tumorigenesis. Anticancer Res 2012;32(4):1193–202.
10. Gonzalez-Villasana V., Gutiérrez-Puente Y., Tari A.M. Cyclooxygenase-2 utilizes Jun N-terminal kinases to induce invasion, but not tamoxifen resistance, in MCF-7 breast cancer cells. Oncol Rep 2013;30(3):1506–10.
11. Ashok V., Dash C., Rohan T.E. et al. Selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors and breast cancer risk. Breast 2011;20(1):66–70.
12. Cho M.H., Yoon J.H., Jaegal Y.J. et al. Expression of cyclooxygenase-2 in breast carcinogenesis and its relation to HER-2/neu and p53 protein expression in invasive ductal carcinoma. Breast 2006;15(3):390–8.
13. Choi D., Piao Y.L., Wu Y., Cho H. Control of the intracellular levels of prostaglandin E₂ through inhibition of the 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase for wound healing. Bioorg Med Chem 2013;21(15):4477–84.
14. Lu D., Han C., Wu T. 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase-derived 15-keto-prostaglandin E₂ Inhibits cholangiocarcinoma cell growth through interaction with peroxisome proliferator-activated receptor- γ , SMAD2/3, and TAP63 proteins. J Biol Chem 2013;288(27):19484–502.
15. Wakimoto N., Wolf I., Yin D. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs suppress glioma via 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase. Cancer Res 2008;68(17):6978–86.
16. Subbaramaiah K., Howe L.R., Zhou X.K. et al. Pioglitazone, a PPAR agonist, suppresses CYP19 transcription: evidence for involvement of 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase and BRCA1. Cancer Prev Res (Phila) 2012;5(10):1183–94.
17. Zhang B., Ma X., Li Z. et al. Celecoxib enhances the efficacy of 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase gene therapy in treating murine breast cancer. J Cancer Res Clin Oncol 2013;139(5):797–807.
18. Lou L.H., Jing D.D., Lai Y.X. et al. 15-PGDH is reduced and induces apoptosis and cell cycle arrest in gastric carcinoma. World J Gastroenterol 2012;18(10):1028–37.
19. Wolf I., O'Kelly J., Rubinek T. et al. 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase is a tumor suppressor of human breast cancer. Cancer Res 2006;66(15):7818–23.
20. Na H.K., Park J.M., Lee H.G. et al. 15-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase as a novel molecular target for cancer chemoprevention and therapy. Biochem Pharmacol 2011;82(10):1352–60.
21. Roberts H.R., Smartt H.J., Greenhough A. et al. Colon tumour cells increase PGE(2) by regulating COX-2 and 15-PGDH to promote survival during the microenvironmental stress of glucose deprivation. Carcinogenesis 2011;32(11):1741–7.
22. Thill M., Fischer D., Kelling K. et al. Expression of vitamin D receptor (VDR), cyclooxygenase-2 (COX-2) and 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (15-PGDH) in benign and malignant ovarian tissue and 25-hydroxycholecalciferol (25(OH)D₃) and prostaglandin E₂ (PGE₂) serum level in ovarian cancer patients. J Steroid Biochem Mol Biol 2010;121(1–2):387–90.
23. Moore A.E., Greenhough A., Roberts H.R. et al. HGF/Met signalling promotes PGE(2) biogenesis via regulation of COX-2 and 15-

PGDH expression in colorectal cancer cells.

Carcinogenesis 2009;30(10):1796–804.

24. Cordes T, Hoellen F, Dittmer C. et al.

Correlation of prostaglandin metabolizing enzymes and serum PGE2 levels with vitamin D

receptor and serum 25(OH)2D3 levels in breast and ovarian cancer. Anticancer Res 2012;32(1): 351–7.

25. Lehtinen L., Vainio P., Wikman H. et al.

15-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase

associates with poor prognosis in breast cancer, induces epithelial-mesenchymal transition, and promotes cell migration in cultured breast cancer cells. J Pathol 2012;226(4): 674–86.