

Роль каскада циклооксигеназы-2 в метастазировании рака молочной железы

М.А. Таипов, И.А. Кудрявцев, К.П. Лактионов, Н.Е. Левченко, В.Е. Шевченко
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

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

Современные подходы в терапии, основанные на изучении генетического портрета опухоли, все сильнее индивидуализируют лечебную тактику, что создает реальные перспективы выздоровления все большего числа пациенток. Экспериментальные и клинические данные показали, что повышенная экспрессия гена COX-2 увеличивает риск метастазирования рака молочной железы (РМЖ) в отдаленные органы. В ряде исследований последних лет обнаружено, что селективные ингибиторы фермента COX-2 способны тормозить пролиферацию, индуцировать апоптоз клеток РМЖ и угнетать неоангиогенез в опухоли. Однако в этой области много неясных и спорных вопросов, экспериментальное решение которых еще впереди. Наш обзор посвящен теоретическим предпосылкам и анализу результатов исследований роли COX-2 в метастазировании РМЖ.

Ключевые слова: рак молочной железы, COX-2, COX-1, простагландины, PGE2, сигнальный путь, маркеры метастазирования, мишени для таргетной терапии

Role of a cyclooxygenase-2 cascade in breast cancer cell dissemination

M.A. Taipov, I.A. Kudryavtsev, K.P. Laktionov, N.E. Levchenko, V.E. Shevchenko
N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Current therapeutic approaches based on a study of the genetic portrait of a tumor individualize treatment policy to a greater extent, which creates real prospects for the increasing number of patients to recover. Experimental and clinical evidence suggest that the increased expression of the COX-2 gene increases the risk for breast cancer (BC) cell dissemination into distant organs. A number of recent studies have revealed that selective COX-2 inhibitors are able to suppress proliferation, to induce apoptosis in the BC cells, and to inhibit tumor neoangiogenesis. However, this area contains many unclear and disputable problems to be still experimentally solved. Our review deals with the theoretical prerequisites for and the analysis of a role of COX-2 in BC cell dissemination.

Key words: breast cancer, COX-2, COX-1, prostaglandins, PGE2, signaling pathway, markers for tumor dissemination, targets for goal-oriented therapy

Введение

По данным Международного агентства по изучению рака, в структуре онкологической заболеваемости у женщин в мире рак молочной железы (РМЖ) занимает 1-е место [1, 2]. Ежегодно регистрируется около 800 тыс. случаев РМЖ [3]. Статистические данные по Российской Федерации свидетельствуют о большом количестве больных с запущенными стадиями РМЖ. В 2009 г. больных с I–II стадиями заболевания насчитывалось 68,5 %, с III стадией — 19 % и с IV стадией — 10,5 % [4]. С учетом масштабности распространения РМЖ эта проблема имеет высокую социальную и клиническую значимость.

Совсем недавно в литературе появилась новая концепция метастазирования и развития опухолей. Экспериментальным путем было доказано, что клетки, покидающие первичную опухоль (циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК)), могут возвращаться, чтобы колонизировать первичную опухоль и стимулировать ее рост. Набор генов в опухолевых клетках, необходимый для метастазирования, является органоспецифичным. При инфильтрации и росте в регионарных

лимфатических узлах и отдаленных органах ЦОК сталкиваются с такими барьерами, как плотный слой эндотелия в капиллярах и «агрессивная среда» микроокружения. Выделяемые опухолью интерлейкин-6 (ИЛ-6) и ИЛ-8 привлекают ЦОК, которые в свою очередь экспрессируют ряд факторов, активирующих сигнальный каскад циклооксигеназы-2 (COX-2) и ускоряющих рост опухоли, ангиогенез и миграцию миелоидных клеток в строму. Исследователи сделали вывод, что крупные опухоли могут быть не только источником отдаленных метастазов, но и результатом самообсеменения [5].

В последнее время многие исследователи рассматривают COX-2 в качестве нового потенциального прогностического маркера и мишени для направленной терапии РМЖ [6]. Недавно опубликованное исследование указывает на статистически значимое увеличение риска развития инвазивного РМЖ у женщин с протоковой карциномой *in situ*, у которых опухоли одновременно экспрессировали COX-2, p16 и Ki-67 [7, 8]. Повышенная активность COX-2, по данным ряда исследователей, коррелировала с развитием метастатических форм РМЖ [9]. Наш обзор посвящен теорети-

Таблица 1. Сравнительная характеристика COX-1 и COX-2 (по D.L. DeWitt, E.A. Meade, W.L. Smith, 1993 [16])

Свойство	COX-1	COX-2
Молекулярная масса, кДа	70	70
Пара хромосом	IX	I
Ген	22кб (11 экзонов)	8,3 (10 экзонов)
Выраженность экспрессии при воспалении	Увеличение в 2–4 раза	Увеличение в 10–80 раз
Тканевая экспрессия	Постоянная в тромбоцитах, эндотелиальных клетках, желудке, почках и большинстве других тканей	Индуцируемая в моноцитах и фибробластах, синовиоцитах; возможно, экспрессируется в других тканях при их стимуляции цитокинами, факторами роста
Эффект глюкокортикоидов	Отсутствует	Выраженное подавление экспрессии
Предполагаемая роль фермента	Синтез простагландинов, регулирующих физиологические функции желудка, почек и сосудов	Синтез простагландинов, участвующих в развитии воспаления, контроле митогенеза, клеточного деления

ческим предпосылкам и практическим результатам исследований роли каскада COX-2 в метастазировании РМЖ.

Циклооксигеназы

Еще в 1970-х годах была высказана версия о существовании различных типов COX — изоферментов COX-1 и COX-2, кодируемых разными генами и разными парами хромосом (IX и I соответственно) и на 60 % гомологичных по аминокислотной последовательности [10–12]. Экспрессия фермента COX-1 происходит во всех типах клеток организма, он постоянно синтезируется в клетке и участвует в физиологических процессах, протекающих в тканях и органах; это «конститутивная» форма COX. Экспрессия же COX-2 (уровень активности которой в физиологических условиях весьма низкий), наоборот, не постоянна, а индуцируема. Сравнительная характеристика основных изоформ COX приведена в табл. 1. Индукция синтеза COX-2 происходит при повреждении тканей или при воспалении в ответ на действие цитокинов ИЛ-1 β , фактора некроза опухоли α , трансформирующего фактора роста β -1 (TGF- β 1) [13]. Причем индуцированная экспрессия COX-2 обнаружена также в клетках РМЖ [14].

Под действием COX-1 и COX-2 из арахидоновой кислоты образуются простагландины PGH₂ и PGG₂. PGH₂ — предшественник других биологически активных простагландинов (PGE₂, PGI₂, PGD₂, PGF_{2 α}) и тромбоксанов A₂ и B₂, которые образуются под действием соответствующих ферментов — синтетаз или изомераз [15]. В табл. 2 показано влияние изоформ COX-1 и COX-2 на биосинтез различных простагландинов и их участие в физиологических процессах [16].

Эффекты простагландинов разнообразны и в первую очередь зависят от того, каким типом клеток они

синтезируются [17]. Однако возможен и трансцеллюлярный метаболизм простагландинных медиаторов — например, вырабатываемый в тромбоцитах PGH₂ может захватываться лейкоцитами и преобразовываться в них в PGE₂ [18, 19]. Трудно обобщить физиологическую роль тех или иных простагландинов, поскольку одно и то же соединение в разных типах клеток может вызывать разные и даже противоположные эффекты. Основные эффекты различных простагландинов приведены в табл. 3.

Участие циклооксигеназы-2 в канцерогенезе

Повышенный уровень COX-2 обнаружен при РМЖ, раке легких, желудка, предстательной железы, почек, аденокарциноме поджелудочной железы [21]. В исследовании, проведенном Y.S. Bakhle, было обнаружено, что каскад COX-2 играет исключительно важную роль в канцерогенезе [22, 23]. Первым описанным индуктором COX-2 был вирусный онкоген (вирус саркомы) [11]. Исследователи M.J. Thun et al. показали, что нестероидные противовоспалительные средства (НПВС), такие как аспирин и сулиндак, снижают смертность от колоректальных форм рака [24]. COX-1 в нормальных условиях постоянно присутствует в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта, тогда как COX-2 экспрессируется преимущественно при предраковых изменениях слизистой оболочки. Простагландины стимулируют пролиферацию клеток различных линий, полученных из разных отделов желудочно-кишечного тракта. Поэтому неудивительно, что НПВС как ингибиторы синтеза простагландинов подавляют пролиферацию злокачественных клеток *in vitro* и рост опухоли *in vivo*. При этом избирательные ингибиторы COX-2 угнетают развитие опухоли в большей степени, чем традиционные НПВС [25].

Кроме того, повышенная экспрессия COX-2 в эпителиальных клетках приводит к торможению апоптоза,

Таблица 2. Участие COX-1 и COX-2 в физиологических и патологических процессах (по D.L. DeWitt, E.A. Meade, W.L. Smith, 1993 [16])

Физиологический/патологический процесс	Участие COX-1	Участие COX-2	Вовлеченные простаноиды
Овуляция	Несущественное	Основное	PGE ₂
Имплантация яйцеклетки	Несущественное	Основное	PGI ₂ (простациклин)
Роды	Основное	Компенсаторное	PGF _{2α}
Развитие воспаления	Существенное при некоторых видах воспаления	Существенное	Нет специфических простагландинов
Разрешение воспаления	Несущественное	Основное	PGD ₂ , 15-deoxy-PGI ₂
Агрегация тромбоцитов	Основное	Не играет роли	Тромбоксан A ₂
Перинатальное развитие почек	Несущественное	Основное	Нет специфических простагландинов
Почечная функция	Существенное		PGE ₂
Зарастание артериального протока	Компенсаторное	Основное	Тромбоксан A ₂ , PGH ₂
Созревание Т-лимфоцитов	Зависит от стадии		PGE ₂
Защита слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта	Обе изоформы необходимы при воспалительных состояниях		Разные простагландины
Изъязвление слизистой оболочки желудка	При ингибировании обеих изоформ		Разные простагландины
Заживление язвы	Несущественное	Основное	Разные подтипы PGE ₂
Рак кишечника	Существенное		Разные простагландины
Выживание стволовых клеток	Основное	Компенсаторное	Разные подтипы PGE ₂

Таблица 3. Некоторые эффекты простагландинов и тромбоксана A₂ [20]

Простаноиды	Биологический эффект и внутриклеточный посредник
PGE ₂ , PGI ₂	Расслабление гладких мышц артериол (активация аденилатциклазы), расширение сосудов
PGF _{2α} , тромбоксан A ₂	Сужение сосудов, особенно вен
PGE ₂ , PGI ₂	Гипералгезия при воспалении
PGE ₁ , PGE ₂	Лихорадка при воспалении (с участием ИЛ-1)
PGD ₂ , PGI ₂	Подавление агрегации тромбоцитов (активация аденилатциклазы)
Тромбоксан A ₂	Усиление агрегации тромбоцитов; является вазоконстриктором, способствуя развитию артериальной гипертензии и гематологических нарушений
Тромбоксан A ₂ , PGF _{2α}	Спазм гладких мышц бронхов
PGE ₁ , PGE ₂ , PGI ₂	Расслабление гладких мышц бронхов
PGE ₂ , PGF _{2α}	Спазм гладких мышц желудочно-кишечного тракта
PGE ₂ , PGI ₂	Снижение секреции соляной кислоты и повышение секреции слизи в желудке

что вызывает аномальный рост ткани и повышает риск малигнизации. В исследовании D. Wang et al. показано, что COX-2-зависимые простагландины снижают скорость апоптоза путем подавления выделения цитохрома С из митохондрий, влияния на Bcl-протеины и ослабления активации каспазы-9 и каспазы-3 [26]. В эксперименте показано, что ингибиторы COX-2 дозозависимо замедляют ангиогенез и рост опухоли [27]. Также обнаружено, что PGE₂ и PGI₂, синтезируемые при участии COX-2, могут стимулировать продукцию факторов ангиогенеза раковыми клетками толстой кишки и молочной железы. Тем самым эти простагландины стимулируют формирование кровеносных

сосудов и рост опухолевой ткани. Активность COX-2 в эндотелии сосудов также играет важную роль в активации ангиогенеза в опухоли [28].

Роль циклооксигеназы-2 в метастазировании рака молочной железы

Согласно современным представлениям, COX-2 активно вовлечена в процессы метастазирования опухолевых клеток, однако механизм участия COX-2 в развитии РМЖ и роль этого фермента в активации различных прометастатических сигнальных путей в клетке до конца не выяснены. Вопрос изучения сигнальных путей и механизмов, связывающих COX-2

с метастазированием РМЖ, остается открытым. Различные исследования показали, что высокие дозы селективных ингибиторов COX-2 могут снизить риск рецидива РМЖ [29], хотя доказательств пока недостаточно, чтобы применять данные знания в клинике [30]. По данным V. Ashok et al., фермент COX-2 связан с метастазированием РМЖ [9]. Мало что известно о связи COX-2 с такими устоявшимися опухолевыми маркерами РМЖ, как HER-2/neu, CA-15-3, Ki-67, рецепторы эстрогена и прогестерона. Известно, что путем индукции экспрессии гена *Bcl-2* фермент COX-2 подавляет апоптоз опухолевых клеток [31]. В недавно опубликованном исследовании М.Н. Cho et al. указывают на статистически значимое увеличение риска развития инвазивного РМЖ у женщин, у которых опухоли одновременно экспрессировали COX-2, p16 и Ki-67 [32]. Обнаружена прямая связь между экспрессией COX-2 и HER-2 в клетках опухоли протоковой карциномы [33]. При стрессе в нормальных клетках молочной железы COX-2 подавляет экспрессию *p53*, тем самым предохраняя клетки от стресс-индуцированного апоптоза. Тем не менее, молекулярные механизмы, посредством которых COX-2 подавляет апоптоз, неизвестны. Обнаружено, что COX-2 регулирует транскрипцию гена *p53*, о чем свидетельствует подавление его индукции при трансфекции в клетку гена *COX-2*. Ряд исследователей предполагает, что COX-2 ингибирует апоптоз, вызванный повреждением ДНК, через прямое регулирование функции белка *p53* [34], хотя данный вопрос еще требует дальнейшего изучения.

В экспериментах обнаружено, что эффективность ингибиторов COX-2 в торможении роста опухоли зависит от интенсивности биосинтеза PGE₂ [35]. В частности, значительное содержание PGE₂ и выраженный противоопухолевый эффект индометацина наблюдаются в перевиваемых опухолях легкого и РМЖ [36]. Рост-лимитирующие свойства PGE₂ характерны для многих линий опухолевых клеток животных и человека [37]. Предполагается, что PGE₂ является важным звеном в метастатическом процессе, диссеминации опухолевых клеток и способствует образованию метастазов двумя путями: повышением миграционных способностей неопластических клеток и супрессией противоопухолевой иммунной защиты [38].

Простагландин PGE₂ — один из главных медиаторов воспалительного ответа [39], играющий важную роль в прогрессии РМЖ; его уровень контролируется ферментами COX-2 и 15-PGDH. Биологическая активность простагландинов реализуется через их взаимодействие со специфическими рецепторами клеток-мишеней, связанными с G-белками. Рецепторы PGD₂, PGE₂, PGF_{2α}, PGI₂ и тромбоксана A₂ обозначают как DP, EP, FP, IP и TP соответственно. Простагландин PGE₂ в большом количестве определяется в опухолевой ткани и в значительной степени подавляет гумо-

ральный и клеточный иммунный ответ. В частности, PGE₂ угнетает ответ Т-лимфоцитов на опухолевые антигены, супрессирует митоген-индуцированную пролиферацию Т-клеток, депрессирует активность NK-клеток, угнетает цитотоксичность макрофагов. В механизме иммуносупрессивного действия PGE₂ важным элементом является нарушение баланса цитокинов вследствие значительного усиления секреции ИЛ-10 макрофагами и лимфоцитами и одновременно торможения продукции ИЛ-12 в макрофагах [40]. Простагландин PGE₂ играет важную роль в регуляции нейтрофилов [41]. Он повышает проницаемость капилляров, увеличивает отек и эритему. Циклооксигеназные метаболиты влияют на равновесие в системе нейтрофил—эндотелий, контролируя такую стратегически важную функцию, как прилипание лейкоцитов к стенке сосудов [42]. Это связано с тем, что простагландин и, возможно, другие простагландины являются частью антиагрегационного и антиадгезионного потенциала эндотелия, который реализуется при взаимодействии активированных нейтрофилов и эндотелиальных клеток [43].

Известно, что PGE₂ играет важную роль при стимулировании роста РМЖ, а его биосинтез возрастает при гиперэкспрессии гена *COX-2*. Простагландин PGE₂ действует через 4 типа рецепторов: EP₁ (увеличение внутриклеточного содержания кальция); EP₂ и EP₄ (активация аденилатциклазы) и EP₃ (торможение аденилатциклазы и увеличение тока ионов кальция в клетку). Рецептор EP₁ кодируется геном *PTGER1*, EP₂ — геном *PTGER2*, EP₃ — геном *PTGER3*. По данным ряда исследований, рецепторы PGE₂ (субтипы EP₁, EP₂, EP₃) связаны с метастазированием опухолевых клеток. В то же время данных о конкретной связи рецепторов PGE₂ с метастазированием РМЖ мало. J. Reader et al. сообщают об обнаружении высокой экспрессии PGE₂ и его рецепторов EP₁, EP₂, EP₃ в опухолевой ткани; ими показано, что PGE₂ регулирует способность опухолевых клеток к миграции и инвазии [44]. Таким образом, PGE₂ и его рецепторы, возможно, являются регуляторами ангиогенеза, метастазирования, опухолевой прогрессии и в будущем могут быть использованы в терапии РМЖ, однако это предположение еще требует экспериментального подтверждения.

Антагонистом PGE₂ является простагландин PGD₂, значительно подавляющий рост лейкозных клеток, включая линии L-1210 и K562, клеток линии HR рака яичников, РМЖ, клеток нейробластомы линии NCG. Простагландин PGD₂ оказывает прямое цитотоксическое действие на злокачественные клетки РМЖ с торможением синтеза ДНК, РНК и белка [45]. Имеются данные о более высокой метастазирующей способности подлинии меланомы B-16, которая синтезирует меньшее количество PGD₂ [46]. В середине

1980-х годов ученые предложили гипотезу о том, что опухолевые клетки могут изменять критический баланс тромбосан A_2/PGI_2 , приводя к агрегации тромбоцитов, благоприятствующей метастазированию опухоли [47]. С данной гипотезой хорошо согласуется факт, что наиболее выраженными антиметастатическими свойствами обладают PGI_2 и PGD_2 — самые эффективные ингибиторы агрегации тромбоцитов среди метаболитов арахидоновой кислоты.

Рецептор PGD_2 (PGDR) является негативным регулятором метастатической активности опухолевых клеток РМЖ [48]. Исследования показали снижение уровня экспрессии гена *PTGDR* в опухолевых клетках в сравнении с нормальными клетками молочной железы. Дефицит PGD_2 усиливает проницаемость сосудов для $COX-2$ и PGE_2 , а повышение уровня PGD_2 тормозит метастатическую активность и ангиогенный потенциал опухоли. Простагландин PGD_2 , действуя через рецептор PGDR2, ингибирует TGF- β 1-индуцированный эпителиально-мезенхимальный переход клеток. Снижение уровня экспрессии PGD_2 в опухолевых клетках приводит к опухолевой прогрессии, активации ангиогенеза и сопровождается аномальным ростом сосудов в опухоли. Дефицит PGD_2 усиливает опухолевый неоангиогенез, а повышение экспрессии PGD_2 и его рецепторов тормозит рост сосудов в опухоли [49]. Однако существует мало данных о роли PGD_2 и его рецепторов в развитии и метастазировании РМЖ. Таким образом, PGD_2 и его рецепторы, возможно, являются негативными регуляторами ангиогенеза, метастазирования, опухолевой прогрессии и в дальнейшем могут применяться в лечении РМЖ, но эта гипотеза требует экспериментального подтверждения.

Исследования последних лет указывают на роль сигнального каскада $COX-2$ в резорбции костной ткани при метастазировании РМЖ в кости. Опухолевые клетки активно секретируют в кровоток ИЛ-6, запускающий процессы резорбции костной ткани посредством активации сигнальных путей $COX-2$, Wnt, TGF- β и NF κ B. Проопухолевый цитокин ИЛ-6 стиму-

лирует экспрессию $COX-2$ в остеобластах и остеокластах, а также продукцию PGE_2 . Простагландин PGE_2 действует как медиатор активации остеокластов за счет повышения экспрессии гена *RANKL* в остеобластах и *RANK* в остеокластах [50]. Кроме того, ИЛ-6 индуцирует экспрессию рецепторов PGE_2 на поверхности клетки [51]. ИЛ-6 одновременно взаимодействует с сигнальными путями $COX-2$ и Wnt, которые контролируют остеогенез и синтез коллагена. Сигнальный путь Wnt контролируется различными ингибиторами, в частности Dickkopf-1 — растворимым белком, который после связывания с Wnt препятствует его взаимодействию с Frizzled и белком — рецептором липопро-теина LRP5/6 и таким образом подавляет сигнальную активность Wnt. Показано также, что LIF — представитель семейства ИЛ-6/gp-130 — играет центральную роль в метаболизме костной ткани, в частности действует на сигнальный каскад $COX-2$ в различных клетках, таких как стромальные клетки, хондроциты, остеобласты, остециты, адипоциты и синовиальные фибробласты [52].

Блокирование ИЛ-6 совместно с использованием ингибиторов $COX-2$ представляет собой новый подход к лечению больных с первично-диссеминированной формой РМЖ.

Заключение

Существует множество различных путей, регулирующих метастатический потенциал опухолевых клеток. Понимание молекулярных основ механизма метастазирования РМЖ позволит в дальнейшем выработать определенную концепцию лечения пациентов с первично-диссеминированной формой заболевания. По нашему мнению, исследование каскада белковых сигнальных путей, ассоциированных с экспрессией $COX-2$, в перспективе позволит идентифицировать новые потенциальные мишени для направленной терапии, а также новые биомаркеры РМЖ. Этой проблеме и посвящены наши дальнейшие исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Matsuda T., Saika K. Worldwide burden of cancer incidence in 2002 extrapolated from cancer incidence in five continents Vol. IX. Jpn J Clin Oncol 2012;42(11):1111–2.
2. Bray F., McCarron P., Parkin D.M. The changing global patterns of female breast cancer incidence and mortality. Breast Cancer Res 2004;6(6):229–39.
3. Yako-Suketomo H., Saika K. Worldwide burden of cancer incidence below the age of 40 in 2002 extrapolated from the Cancer Incidence in Five Continents Vol. IX. Jpn J Clin Oncol 2013;43(3):343–4.
4. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2009 году. Под ред. М.И. Давыдова, Е.М. Аксель. Вестн РОНЦ 2011;22(3 Прил 1):3–170.
5. Comen E., Norton L., Massague J. Breast cancer tumor size, nodal status, and prognosis: biology trumps anatomy. J Clin Oncol 2011;29(19):2610–2.
6. Wiwanitkit V. Combination of EGFR and $COX-2$ inhibitors in breast cancer patient. Tumour Biol 2012;33(4):1261.
7. Petersen M., Pardali E., van der Horst G. et al. Smad2 and Smad3 have opposing roles in breast cancer bone metastasis by differentially affecting tumor angiogenesis. Oncogene 2010;29(9):1351–61.
8. Basolo F., Fiore L., Ciardiello F. et al. Response of normal and oncogene-transformed human mammary epithelial cells to transforming growth factor beta 1 (TGF-beta 1): lack of growth-inhibitory effect on cells expressing the simian virus 40 large-T antigen. Int J Cancer 1994;56(5):736–42.
9. 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.

10. Fu J.Y., Masferrer J.L., Seibert K. et al. The induction and suppression of prostaglandin H2 synthase (cyclooxygenase) in human monocytes. *J Biol Chem* 1990;265(28):16737–40.
11. Xie W.L., Chipman J.G., Robertson D.L. et al. Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88(7):2692–6.
12. Kraemer S.A., Meade E.A., DeWitt D.L. Prostaglandin endoperoxide synthase gene structure: identification of the transcriptional start site and 5'-flanking regulatory sequences. *Arch Biochem Biophys* 1992;293(2):391–400.
13. Garavito R.M., DeWitt D.L. The cyclooxygenase isoforms: structural insights into the conversion of arachidonic acid to prostaglandins. *Biochim Biophys Acta* 1999;1441(2–3):278–87.
14. Jana D., Sarkar D.K., Maji A. et al. Can cyclo-oxygenase-2 be a useful prognostic and risk stratification marker in breast cancer? *J Indian Med Assoc* 2012;110(7):429–33.
15. Vane J.R., Bakhle Y.S., Botting R.M. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1998;38:97–120.
16. DeWitt D.L., Meade E.A., Smith W.L. PGH synthase isoenzyme selectivity: the potential for safer nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Am J Med* 1993;95(2A):40S–44S.
17. Taiwo Y.O., Levine J.D. Indomethacin blocks central nociceptive effects of PGF2 alpha. *Brain Res* 1986;373(1–2):81–4.
18. Boie Y., Stocco R., Sawyer N. et al. Molecular cloning and characterization of the four rat prostaglandin E2 prostanoid receptor subtypes. *Eur J Pharmacol* 1997;340(2–3):227–41.
19. Marcus A.J. Transcellular metabolism of eicosanoids. *Prog Hemost Thromb* 1986;8:127–42.
20. Марусов И.В., Марусова И.Б., Игнатов Ю.Д. и др. Современные направления фармакологической коррекции эффектов липидных медиаторов воспаления: Научный обзор. Ученые записки СП(б)ГМУ им. акад. И.П. Павлова 2001;8(2):7–57.
21. Brandao R.D., Veeck J., Van de Vijver K.K. et al. A randomised controlled phase II trial of pre-operative celecoxib treatment reveals anti-tumour transcriptional response in primary breast cancer. *Breast Cancer Res* 2013;15(2):R29.
22. Ma X., Holt D., Kundu N. et al. A prostaglandin E (PGE) receptor EP4 antagonist protects natural killer cells from PGE2-mediated immunosuppression and inhibits breast cancer metastasis. *Oncoimmunology* 2013;2(1):e22647.
23. Bakhle Y.S. COX-2 and cancer: a new approach to an old problem. *Br J Pharmacol* 2001;134(6):1137–50.
24. Thun M.J., Henley S.J., Patrono C. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as anticancer agents: mechanistic, pharmacologic, and clinical issues. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(4):252–66.
25. Gupta R.A., Dubois R.N. Colorectal cancer prevention and treatment by inhibition of cyclooxygenase-2. *Nat Rev Cancer* 2001;1(1):11–21.
26. Wang D., Mann J.R., DuBois R.N. The role of prostaglandins and other eicosanoids in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 2005;128(5):1445–61.
27. Masferrer J.L., Koki A., Seibert K. COX-2 inhibitors. A new class of angiogenic agents. *Ann NY Acad Sci* 1999;889:84–6.
28. Wang D., DuBios R.N. Cyclooxygenase 2-derived prostaglandin E2 regulates the angiogenic switch. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(2):415–6.
29. Khasar S.G., Gold M.S., Levine J.D. A tetrodotoxin - resistant sodium current mediates inflammatory pain in the rat. *Neurosci Lett* 1998;256(1):17–20.
30. Collins D.R., Davies S.N. Arachidonic acid metabolites and the synaptic potentiation evoked by activation of metabotropic glutamate receptors. *Eur J Pharmacol* 1998;342(2–3):213–6.
31. Cuzick J., Dowsett M., Pineda S. et al. Prognostic value of a combined estrogen receptor, progesterone receptor, Ki-67, and human epidermal growth factor receptor 2 immunohistochemical score and comparison with the genomic health recurrence score in early breast cancer. *J Clin Oncol* 2011;29(32):4273–8.
32. 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.
33. de Roos M.A., de Bock G.H., de Vries J. et al. p53 overexpression is a predictor of local recurrence after treatment for both in situ and invasive ductal carcinoma of the breast. *J Surg Res* 2007;140(1):109–14.
34. Yiu G.K., Toker A. NFAT induces breast cancer cell invasion by promoting the induction of cyclooxygenase-2. *J Biol Chem* 2006;281(18):12210–7.
35. Howe L.R. Inflammation, breast cancer. Cyclooxygenase/prostaglandin signaling and breast cancer. *Breast Cancer Res* 2007;9(4):210.
36. Harvey J.M., Clark G.M., Osborne C.K., Allred D.C. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1999;17(5):1474–81.
37. Kerlikowske K., Molinaro A.M., Gauthier M.L. et al. Biomarker expression and risk of subsequent tumors after initial ductal carcinoma in situ diagnosis. *J Natl Cancer Inst* 2010;102(9):627–37.
38. Subbaramaiah K., Morris P.G., Zhou X.K. et al. Increased levels of COX-2 and prostaglandin E2 contribute to elevated aromatase expression in inflamed breast tissue of obese women. *Cancer Discov* 2012;2(4):356–65.
39. Wang D., DuBois R.N. The role of the PGE2-aromatase pathway in obesity-associated breast inflammation. *Cancer Discov* 2012;2(4):308–10.
40. Sandra N., Ester P., Marie-Agnès P. et al. The DHEA metabolite 7β-hydroxy-epiandrosterone exerts anti-estrogenic effects on breast cancer cell lines. *Steroids* 2012;77(5):542–51.
41. Wang J., Xiao X., Zhang Y. et al. Simultaneous modulation of COX-2, p300, Akt, and Apaf-1 signaling by melatonin to inhibit proliferation and induce apoptosis in breast cancer cells. *J Pineal Res* 2012;53(1):77–90.
42. Bronger H., Kraeft S., Schwarz-Boeger U. et al. Modulation of CXCR3 ligand secretion by prostaglandin E2 and cyclooxygenase inhibitors in human breast cancer. *Breast Cancer Res* 2012;14(1):R30.
43. Holt D.M., Ma X., Kundu N. et al. Modulation of host natural killer cell functions in breast cancer via prostaglandin E2 receptors EP2 and EP4. *J Immunother* 2012;35(2):179–88.
44. Reader J., Holt D., Fulton A. Prostaglandin E2 EP receptors as therapeutic targets in breast cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2011;30(3–4):449–63.
45. Gao X., Nawaz Z. Progesterone receptors – animal models and cell signaling in breast cancer role of steroid receptor coactivators and corepressors of progesterone receptors in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2002;4(5):182–6.
46. Thill M., Hoellen F., Becker S. et al. Expression of prostaglandin- and vitamin D-metabolising enzymes in benign and malignant breast cells. *Anticancer Res* 2012;32(1):367–72.
47. Xin X., Majumder M., Girish G.V. et al. Targeting COX-2 and EP4 to control tumor growth, angiogenesis, lymphangiogenesis and metastasis to the lungs and lymph nodes in a breast cancer model. *Lab Invest* 2012;92(8):1115–28.
48. Murata T., Aritake K., Matsumoto S. et al. Prostaglandin D2 is a mast cell-derived antiangiogenic factor in lung carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(49):19802–7.
49. Murata T., Lin M.I., Aritake K. et al. Role of prostaglandin D2 receptor DP as a suppressor of tumor hyperpermeability and angiogenesis in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(50):20009–14.
50. Monroe D.G., McGee-Lawrence M.E., Oursler M.J., Westendorf J.J. Update on Wnt signaling in bone cell biology and bone disease. *Gene* 2012;492(1):1–18.
51. Ara T., Declerk Y.A. Interleukin-6 in bone metastasis and cancer progression. *Eur J Cancer* 2010;46(7):1223–31.
52. Soto-Guzman A., Villegas-Comonfort S., Cortes-Reynosa P., Perez Salazar E. Role of arachidonic acid metabolism in Stat5 activation induced by oleic acid in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2013;88(3):243–9.