

UNUTARSTANIČNI SIGNALNI PUTEVI U KARCINOGENEZI KOLOREKTALNOG TUMORA

Intracellular pathways in colorectal carcinogenesis

Skraćeni naslov: Unutarstanični signalni putevi u karcinogenezi kolorektalnog tumora

Saša Badžek¹, Vesna Lesko Kelović¹, Stjepko Pleština¹, Juraj Prejac¹, Mate Majerović², Goran Augustin²

Sažetak

Karcinom kolorektalnog tumora jedna je od najčešćih i najsmrtonosnijih malignih bolesti, s oko 500 000 novootkrivenih slučajeva diljem svijeta godišnje. Zlatni standard sekundarne prevencije je kolonoskopija s polipektomijom, koja smanjuje učestalost raka crijeva za 30-40% u rizičnoj populaciji. Prvotni pokušaji primarne prevencije karcinoma crijeva selektivnim nesteroidnim protuupalnim lijekovima pokolebani su njihovom neočekivanom toksičnošću. Boljim upoznavanjem unutarstaničnih signalnih puteva karcinogeneze, čiji pregled donosimo u ovom članku, spoznaju se nove mogućnosti njihovog selektivnog isključivanja, a samim time i sprečavanja nastanka karcinoma.

Ključne riječi

kolorektalni karcinom, karcinogeneza

Abstract

Colorectal cancer is a common and deadly malignant tumor, with 500 000 new cases detected worldwide each year. Colonoscopy with polypectomy is the golden standard for secondary prevention, with 30-40% colorectal cancer incidence reduction in high-risk population. First efforts in primary prevention with selective non-steroidal anti-inflammatory drugs are discouraged by their unexpected toxicity. Better understanding of intracellular signaling pathways responsible for colorectal cancer carcinogenesis, as reviewed in this article, leads to development of new methods for their selective switch off, and thereby prevention of tumor nascence.

Keywords

colorectal cancer, carcinogenesis

Uvod

Karcinom kolorektalnog tumora jedna je od najčešćih i najsmrtonosnijih malignih bolesti u svijetu. Godišnje se u svijetu otkrije oko 500 000 novih bolesnika, dok su u Hrvatskoj tijekom 2004. godine otkrivena 1203 nova bolesnika, od toga 489 žena i 714 muškaraca, što odgovara stopi incidencije od ukupno 27,1 na 100 000 stanovnika, od toga 21,2 kod žena i 33,4 kod muškaraca. Smrtnost kod raka crijeva je visoka te je relativno 5-godišnje preživljenje u Hrvatskoj iznosilo 49% kod muškaraca te 50% kod žena u razdoblju od 1994. do 1998. godine. Pridodamo li prosječnu tjednu cijenu liječenja od 217 do 2191 američkih dolara po bolesniku (ovisno o primijenjenom kemoterapijskom protokolu) [1], rak crijeva svrstava se u jedan od vodećih zdravstvenih problema u svijetu.

Uzimajući u obzir sve navedeno te mehanizam nastanka raka crijeva iz benignih crijevnih polipa, tijekom posljednja dva desetljeća posebna je važnost usmjerena na sekundarnu prevenciju raka crijeva. Kolonoskopija s polipektomijom kao najučinkovitija i ekonomski najisplativija metoda prihvaćena je kao zlatni standard, s obzirom na to da u rizičnoj populaciji smanjuje smrtnost od raka crijeva za 30-40% [2].

S obzirom na opservacijom uočenu statističku povezanost između redovitog uzimanja nesteroidnih protuupalnih lijekova (NSAID, engl. non-steroidal anti-inflammatory drugs), poglavito acetilsalicilne kiseline, i smanjenja učestalosti raka crijeva [3-6] te s obzirom na dobro poznatu pojačanu ekspresiju upalnog enzima ciklooksigenaze-2 (COX-2) u tumorskom tkivu raka

¹ Klinika za onkologiju, KBC Zagreb,

² Klinika za kirurgiju, KBC Zagreb

Korespondencija: Saša Badžek, dr. med., KBC Zagreb, Klinika za onkologiju, Kišpatičeva 12, 10 000 Zagreb, Hrvatska, e-mail: sbadzek@kbc-zagreb.hr

crijeva [7-10], provedene su tri kliničke studije prevencije raka crijeva selektivnim inhibitorima COX-2, koje su prekinute zbog do tada neuočene kardiotoksičnosti navedenih lijekova. Kardioprotektivna uloga COX-2 još nije razjašnjena, no nadamo se da će u skorijoj budućnosti ova zapreka jednostavnoj i učinkovitoj kemoprevenciji raka crijeva biti uklonjena. Naime, inhibicija COX-2 celekoksibom ili rofekoksibom smanjuje učestalost recidiva uznapredovalih adenoma crijeva (većih od 1 cm, s viloznom ili tubuloviloznom patohistološkom slikom, ili s displazijom visokog stupnja) i invazivnih karcinoma crijeva za do 66%, odnosno do 28% tijekom trogodišnjeg praćenja [11-13].

Poznato je i da aspirin i drugi nesteroidni protuupalni lijekovi usporavaju razmnožavanje stanica i pojačavaju apoptozu i u staničnim kulturama raka crijeva u kojima nije uočena povećana ekspresija COX-2, najvjerojatnije inhibicijom nuklearnog čimbenika kapa-B (NF- κ B) [14] i posljedičnom aktivacijom niza unutarstaničnih procesa koji imaju ulogu u preživljavanju stanica, indukcijom apoptoze aktivacijom p38 kinaze [15] i ulogom u katabolizmu poliamina [16], no glavna njihova djelovanja u kemoprevenciji raka crijeva ipak se odvija putem inhibicije COX-2 [17].

Pojačana ekspresija COX-2 i posljedična sinteza proinflammatoryh citokina okida niz unutarstaničnih procesa ključnih za inhibiciju apoptoze, pojačavanje angiogeneze i pojačavanje invazivnosti tumorskih stanica. Inhibicija apoptoze kojoj posreduje COX-2 dokazana je u nizu malignih tumora: gliomima [18], karcinomima glave i vrata [19], pluća [20], jednjaka [21], žučnog mjehura [22], gušterače [23] i crijeva [24]. Tumorske stanice osiguravaju vlastiti rast lučenjem čimbenika rasta krvnih žila (VEGF, bFGF, PDGF i dr.) koji stimuliraju angiogenezu [25]. PGE2 i COX-2 stimuliraju tumorsku angiogenezu pojačavanjem lučenja VEGF, koji je najvažniji čimbenik procesa, a koji većina malignih tumora proizvede u velikim količinama, čime se pokreće proces metastaziranja. Tromboksan A2 (TXA2) je produkt eikozanoida koji jednako tako djeluje kao aktivator angiogeneze, a čiju produkciju inhibiraju selektivni COX-2 antagonisti. Povećana invazivnost karcinoma povezana je s povećanom produkcijom matriks metaloproteinaza 1, 2, 3, 7 i 9 (MMP-1, -2, -3, -7, -9) i smanjenom ekspresijom tkivnog inhibitora metaloproteinaza 1 (TIMP-1) [26].

Karcinom crijeva je heterogena bolest, za čiji nastanak je potreban niz genetskih mutacija potrebnih za remećenje stanične homeostaze prije pojave invazivnog ponašanja, a COX-2 je karika u lancu i razvoja i invazivnosti karcinoma crijeva utjecajem na niz unutarstaničnih procesa.

Patogeneza karcinoma crijeva

Karcinom crijeva može nastati sporadično ili može biti

nasljedan, u sklopu sindroma obiteljske nasljedne polipoze kolona (FAP, engl. familial adenomatous polyposis) ili kao nasljedni nepolipozni karcinom crijeva (HNPCC, engl. hereditary non-polyposis colorectal cancer). Mutacije koje uzrokuju nasljedne oblike karcinoma crijeva nazočne su u gotovo svim sporadičnim slučajevima (oko 85% bolesnika ima mutacije karakteristične za FAP, dok oko 15% bolesnika ima mutacije karakteristične za HNPCC). Nakupljanjem pojedinačnih mutacija formiraju se aberantne kripte crijevnog žljezdanog epitela (ACF, engl. aberrant crypt foci), koje se posljedično daljnjim mutacijama pretvaraju u adenom te konačno transformiraju u adenokarcinom [27, 28].

FAP nastaje mutacijom gena koji kodira APC (engl. adenomatous polyposis coli) na kromosomu 5q21. Posljedično formiranju adenoma dolazi do aktivirajuće mutacije K-ras onkogene, a daljnjim gubitkom funkcije tumorskih supresora Smad4 i p53 dolazi do prijelaza adenoma u karcinom [29].

HNPCC nastaje mutacijom gena uključenih u popravljavanje DNA, poput MSH2, MLH1 i PMS2. Posljedica je mikrosatelitska nestabilnost genoma pa se javljaju tzv. „frameshift“ mutacije, obilježene ponavljanjem karakterističnih slijedova nukleotida diljem genoma, a koje s vremenom uzrokuju nastanak karcinoma [30, 31].

Osim mutacija gena, ulogu u nastanku karcinoma imaju i epigenetske promjene, poput metilacije promotorskih slijedova DNA bogatih citidin-fosfogvanozinom (CpG) i acetilacija, metilacija i fosforilacija histona [32, 33].

Ubikvitinsko-proteasomski sustav igra ulogu u karcinogenezi raka crijeva regulacijom ključnog antiapoptotičkog transkripcijskog čimbenika NF- κ B (engl. nuclear factor – kappa B).

Indukcija COX-2 izoforme ciklooksigenaze, enzima koji razgrađuje membranske lipide (arahidonsku kiselinu) do prostaglandina G2 i konačno H2, dovodi do sprečavanja nakupljanja arahidonske kiseline u tumorskim stanicama što inhibira njihovu apoptozu. Kao što je već spomenuto, COX-2 inducirana je u većini ljudskih tumora te blokada njezinog djelovanja nesteroidnim antireumaticima ima antineoplastički učinak. Iako se za navedene lijekove ispostavilo da imaju i druge antitumorske učinke osim blokade COX-2, glavna njihova djelovanja odvija se upravo ovim putem, što doprinosi značajnosti istraživanja COX-2 i njezina djelovanja u liječenju malignih bolesti.

Prikaz karcinogeneze raka crijeva, regulacijskih mehanizama i višestruke uloge COX-2 u karcinogenezi nalazi se na Slici 1.

APC i Wnt put

APC je regulator unutarstaničnog Wnt signalnog puta. Put se aktivira putem membranskih receptora Frizzled,

a može ga aktivirati oko 20 različitih liganada Wnt-a koje sve kodira humani genom [34]. Aktivirani receptor u suradnji s LRP5 (engl. low-density lipoprotein receptor related protein 5) aktivira citoplazmatski protein „dishevelled“ (od engl. dishevel = stvaranje nereda), koji u suradnji s GBP (engl. GSK3 β binding protein) inhibira GSK3 β kinazu (engl. glycogen synthase kinase-3 β) [35, 36]. GSK3 β kinaza sastavni je dio multiproteinskog kompleksa koji se sastoji još od aksina, APC, konduktina, β -katenina i kazein kinaze II (CKII), a čija je uloga potpomaganje dvostupanjske fosforilacije i posljedične razgradnje β -katenina putem ubikvitinsko-proteasomskog sustava (UPS). Inhibicijom GSK3 β kinaze dolazi do stabilizacije β -katenina, što dovodi do njegovog gomilanja u staničnoj jezgri, stvaranja kompleksa β -katenina s transkripcijskim čimbenikom TCF4/LEF (engl. T cell factor 4/lymphoid enhanced factor) te konačno pokretanja procesa transkripcije 20-ak različitih gena uključenih u procese staničnog razmnožavanja, apoptoze i metastaziranja, poput ciklina D1, C-myc, MMP-7, CD44, Nr-CAM, L1, glikoproteina P, interleukina-8, Id2, C-jun, Fra-1, Groucho proteina, CBP/p300, Frizzled, Akt1, PPAR δ , konduktina, Met, te EphB2 i B3 [37-50]. β -katenin pokreće transkripciju i neovisno od β -katenin/TCF4 kompleksa, putem transkripcijskog čimbenika FoxO, koji regulira sintezu ARF, pozitivnog regulatora tumor supresora p53 [51].

APC ima antiapoptotičku aktivnost neovisnu o stabilizaciji β -katenina, putem kaspaze-8 te u slučaju inaktivirajuće genetske mutacije APC dolazi i do inhibicije apoptoze [52].

Aktivnost GSK3 β kinaze moduliraju i drugi unutarstanični procesi osim Wnt signalizacije, između ostalih aktivacija akt kinaze, čime ovaj proces dobija dodatnu važnost u patogenezi karcinoma crijeva.

β -katenin, osim aktivacije transkripcije, ima ulogu i u stabilizaciji međustaničnih spojeva, služeći kao prenosnica između E-kadherina i aktina [53].

β -katenin direktno inhibira transkripcijski čimbenik NF- κ B, čime se inhibira niz unutarstaničnih procesa uključenih u apoptozu [54].

Iako β -kateninski sustav može biti aktiviran i fiziološki putem analoga Wnt, mutacija APC dovodi do daleko jače ekspresije reguliranih gena te samim time i do nastanka tumora. Međutim, β -kateninski sustav ima samo jednu aktivacijsku ulogu u procesu karcinogeneze koju prate tri supresorske uloge, čime možemo objasniti činjenicu da samo APC mutacija ne dovodi proces dalje od nastanka adenoma, već da su za nastanak karcinoma potrebne dodatne mutacije koje interferiraju s procesima stanične homeostaze.

Aktivacija K-ras

Aktivirajuće mutacije K-ras onkogene nazočne su u oko 40-50% karcinoma crijeva, a pokreću četiri

unutarstanične kaskade odgovorne za procese staničnog razmnožavanja, inhibicije apoptoze, promocije angiogeneze te inhibicije tumorskih supresora.

Aktivacijom Raf kinaze dolazi do aktiviranja MAPK kaskade aktiviranjem kinaza MEK1 i 2, koje putem ERK 1 i 2 (engl. extracellular-signal regulated kinase) i JNK 1 i 2 (engl. c-jun N-terminal kinase) aktiviraju transkripcijske čimbenike poput elk1, c-myc i AP-1 (koji je sastavljen od c-jun i c-fos). Potonji ima važnu ulogu u procesima staničnog razmnožavanja [55]. Aktivacija MAPK kaskade dovodi i do povećanja koncentracije glikoproteina P u stanicama, čime se pojačava rezistencija stanica na citostatike [56].

Aktivacija PI3-K serin-treonin kinaze aktivira kinazu Akt, koja fosforilira nekoliko supstrata poput IKK kinaze, s posljedičnom aktivacijom NF- κ B i inhibicijom apoptoze, zatim GSK-3 β koja se fosforilacijom inaktivira i dovodi do aktivacije (pojačanja) β -katenina i Wnt puta, zatim inhibira Bcl-2 i posljedično proapoptotički sustav kaspaze-9 [57] te konačno inhibira transkripcijske čimbenike FKHR i FoxO čime inhibira tumor supresor p53 [58]. Akt kinaza aktivira i mTOR, koji inhibicijom 4E-BP održava translacijski čimbenik eIF4 aktivnim te omogućuje translaciju proteina poput ciklina D, HIF (engl. hypoxia inducible factor) i ornitin dekarboksilaze [59].

Aktivacijom RalGDS, čimbenika nukleotidne izmjene Ral, K-ras djeluje na remodeliranje citoskeleta, endo- i egzocitozu te proliferaciju stanica.

Aktivacijom fosfolipaze C ϵ (PLC ϵ) dolazi do proizvodnje InsP3 receptora uključenih u kalcijско signaliziranje [60].

Zaključno, aktivacijom K-ras onkogene dolazi do dodatnog napretka procesa karcinogeneze daljnjim remećenjem već oštećenih procesa stanične homeostaze, kao i uključivanjem novih unutarstaničnih kaskada.

TGF- β put

Vezivanjem TGF- β (engl. transforming growth factor β) za receptore T β RI i T β RII dolazi do pokretanja unutarstanične signalizacije koja aktivira R-Smad proteine (Smad 2, 3 i 4) koji su transkripcijski čimbenici. Složenost TGF- β signalizacije odražava se u činjenici da regulira ekspresiju oko 4000 različitih gena (što je oko 10% procijenjenog ljudskog genoma). U patogenezi karcinoma crijeva međudjeluje na nekoliko razina.

Onkogen K-ras inhibira TGF- β signalizaciju putem MAPK/ERK puta, no stimulacija T β RI i T β RII dovodi do direktne aktivacije PI3-K kinaze te posljedično kinaze Akt, a jednako tako aktivacija navedenih receptora može direktno aktivirati i K-ras [61]. Dakle, oba regulacijska puta povezana su negativnim povratnim spregama, no u slučaju pojave mutacija Smad gena dolazi do hiperaktivacije K-ras/MAPK/ERK puta [62].

TGF- β /Smad signalizacija međudjeluje i s β -katenin/Wnt regulacijskim putem na više načina. Naime, nemogućnost razgradnje aksina u slučaju defekta APC i gomilanja multiproteinskog kompleksa β -katenin/aksin/GSK-3 β /APC/konduktin pojačava interakciju Smad3 s T β R kompleksom, čime dovodi do aktivacije TGF- β signalizacije [63]. Na transkripcijskoj razini Smad međudjeluju s β -katenin/TCF4 kompleksom [64].

Mutacije Smad proteina nazočne su kao kasni događaji u karcinogenezi raka crijeva u 20% slučajeva, a češće su povezane s mikrosatelitskom nestabilnošću genoma prisutnom u HNPCC [65, 66]. Jednako tako, na pokusnim životinjama, uočena je veća učestalost karcinoma promijenjenih crijevnih polipa u slučaju nazočnosti obje mutacije (i APC i Smad4), nego u slučaju pojedinačnih mutacija [67].

Onkogen p53

Protein p53 transkripcijski je čimbenik uključen u regulaciju nekoliko skupina gena uključenih u regulaciju kontrole staničnog ciklusa i apoptoze, poput proteina iz Bcl-2 porodice (Bad, Bax, PUMA, Noxa), receptora smrti (Fas, DR4, DR5), proteina koji reguliraju aktivnost kaspaza (PIDD), Cdk inhibitora p21, regulatora staničnog ciklusa (14-3-3 σ , Gadd45) te E3 ligaza (Siah1, mdm2) [68-71]. Može pokrenuti unutarstanične puteve i u smislu opstanka stanice i u smislu apoptoze, a koji će procesi biti pokrenuti ovisi o fosforilaciji p53 proteina u različite produkte, a na nivou transkripcije o kofaktorima koji se uz njega vežu na regulacijske slijedove DNA nukleotida ovisno o promjenama uzrokovanih fosforilacijom. Poznati su aktivatori p53 kinaza ATM (engl. ataxia teleangiectasia mutated) u slučaju oštećenja DNA, zatim GSK-3 β , p38 i JNK [72].

Protein p53 otkriven je prije više od 25 godina kao jedan od ključnih gena za nastanak karcinoma crijeva. U karcinogenezi raka crijeva ključna je njegova uloga kao regulatora stabilnosti β -katenina, putem ciljnog gena Siah-1 (E3 ligaza koja ubikvitinira β -katenin za razgradnju) [73]. Mutacija p53 dodatno pojačava rano poremećene procese homeostaze regulirane putem β -kateninskog sustava. Preko Siah-1 E3 ligaze p53 povezan je i sa staničnim odgovorom na hipoksiju, jer su supstrati navedene ligaze i prolil-hidroksilaze koje pripremaju transkripcijski čimbenik HIF (engl. hypoxia inducible factor) za razgradnju putem ubikvitinsko-proteasomskog sustava [74]. Hipoksija tumorskih stanica jedan je od ključnih čimbenika pojačanja procesa rasta i razmnožavanja tumorskih stanica; sintezom epidermalnog, inzulinu sličnog i transformirajućeg čimbenika rasta EGF, IGF-2 i TGF- β (engl. epidermal growth factor, insulin-like growth factor-2), pojačanja procesa angiogeneze; sintezom vaskularnog endotelnog čimbenika rasta VEGF (engl. vascular endothelial growth factor), promocije malignog fenotipa tumora metaboličkom adaptacijom

na nepovoljne uvjete u staničnom mikrookolišu (pokretanjem anaerobnog metabolizma i glikolize) te konačno otpornosti tumorske stanice na radioterapiju i kemoterapiju koja je regulirana transkripcijskim čimbenikom HIF [75]. Ovi se procesi dodatno pojačavaju oštećenjem funkcije p53.

Mutacija p53 kasni je događaj u karcinogenezi raka crijeva, a obično se zbiva već nakon tranzicije adenoma u karcinom [76].

Ubikvitinsko-proteasomski sustav

Ubikvitin je protein koji ima ulogu biljega za razgradnju brojnih staničnih bjelančevina na proteasomskom sustavu. Nespecifičnom razgradnjom proteina uključen je u regulaciju niza unutarstaničnih procesa poput transkripcije, kontrole staničnog ciklusa, apoptoze, popravljivanja DNA, MHC I vezane prezentacije antigena te staničnog odgovora na stres [77].

Ubikvitinacija staničnih bjelančevina za razgradnju složen je proces koji se odvija u tri koraka, a regulira ga preko 50 enzima. Proces ubikvitinacije je reverzibilan, a ponovno stavljanje obilježenih bjelančevina u funkciju (deubikvitinacija) regulira oko 70 različitih enzima [78]. Prvi korak u obilježavanju proteina za razgradnju je aktivacija ubikvitina regulirana E1 enzimima (ubikvitin-aktivirajući enzimi) koja zahtijeva potrošnju energije, koju slijedi konjugacija ubikvitina E2 enzimima (ubikvitin-konjugirajući enzimi) te konačno vezanje aktiviranog i konjugiranog ubikvitina za ciljni protein predviđen za razgradnju na proteasomu, reguliran E3-ligazama (ubikvitin-ligaze). E3-ligaze moraju vezati najmanje četiri molekule ubikvitina za ciljnu bjelančevinu kako bi bila prepoznata za razgradnju [79]. Katalitička podjedinica proteasoma je kompleksna proteaza koja razgrađuje bjelančevine na tri različita načina [80].

Ubikvitinsko-proteasomski sustav (UPS) razgradnjom regulira čitav niz staničnih procesa, s obzirom na to da su supstrati proteasoma brojni transkripcijski čimbenici, regulatori transkripcijskih čimbenika, kinaze, fosfataze, inhibitori kinaza i druge bjelančevine koje igraju važnu ulogu u staničnom rastu, razmnožavanju, apoptozi i homeostazi.

Od osobite važnosti za karcinogenezu raka crijeva putem UPS-a je regulacija transkripcijskog čimbenika NF- κ B i β -katenina, kao što je ranije opisano. Ubikvitinacija i razgradnja NF κ B i β -katenina regulirana je istom E3-ligazom, β TrCP, čija se aktivnost pojačava uključivanjem Wnt puta [81].

Vrlo bitnu ulogu u karcinogenezi ima i regulacija apoptoze koja se odvija upravo putem UPS-a. Naime, inhibitori apoptoze (IAP, engl. apoptosis inhibitor proteins) su E2 enzimi i E3-ligaze, koji igraju ulogu u razgradnji čitavog niza apoptotičkih enzima (efektorskih kaspaza) upravo putem UPS-a [82]. Dodatni regulacijski mehanizam apoptoze je razgradnja

p53 proteina upravo putem istog sustava [83]. Efektorske kaspaze su same sposobne inhibirati funkciju proteasoma u slučaju pojave apoptotičkog signala te je potrebna dodatna proizvodnja proteasoma kako bi se apoptoza nastavila [84].

UPS ima važnu ulogu i u kontroli staničnog ciklusa s obzirom na to da se glavni regulator mitoze (ciklin B) razgrađuje u proteasomskom sustavu nakon završene mitoze [85].

Ciklooksigenaza-2, upalni medijatori i metabolizam membranskih lipida

Značajnost COX-2 u patogenezi karcinoma crijeva shvaćena je tek kada se uočilo da nesteroidni antireumatici dovode do regresije crijevnih polipa kod bolesnika s nasljednom polipozom kolona. COX-2 je inducibilna izoforma enzima koja se pojačano sintetizira u upalnom odgovoru, a povećana joj je ekspresija kod gotovo svih ljudskih malignih tumora. Sinteza COX-2 regulirana je Wnt putem i MAPK kaskadom K-ras sustava, a potaknuta je suradnjom NF- κ B i interferona- γ , interleukina-1 β , interleukina-6 i NF-IL6, NFAT (engl. nuclear factor of activated T cells), PPRE (engl. peroxisome proliferator response element) te egzogenih karcinogena u različitim vrstama stanica, a čiji se regulacijski elementi nalaze u promotoru gena za COX-2 [86-96]. Inhibirana je putem translacijskog prigušivača TIA-1 [97, 98]. Upravo NFAT element na COX-2 promotoru ima ključnu ulogu u indukciji sinteze COX-2 u stanicama karcinoma crijeva [99].

COX-2 ciklooksigenazom i peroksidaznom enzimskom aktivnošću razgrađuje arahidonsku kiselinu na prostaglandin G2 (PGG2) i PGH2, koji se dalje prevode u aktivne oblike prostaglandina PGE2, PGD2, PGF2, PGI2 i tromboksan A2 (TXA2) specifičnim prostaglandinskim sintazama [100]. Proizvedeni metaboliti se putem MRP4 (engl. multi-drug resistance protein 4) transportiraju van stanice u kojoj su sintetizirani, a vezanjem za odgovarajuće receptore autokrino i parakrino potiču stanično preživljavanje, razmnožavanje i angiogenezu [101-103]. Prostaglandini koji ulaze u krvotok enzimatski se metaboliziraju praktično u roku od oko 30 sekundi, prilikom prvog prolaska krvi kroz pluća [104].

PGE2 putem svoja četiri membranska receptora

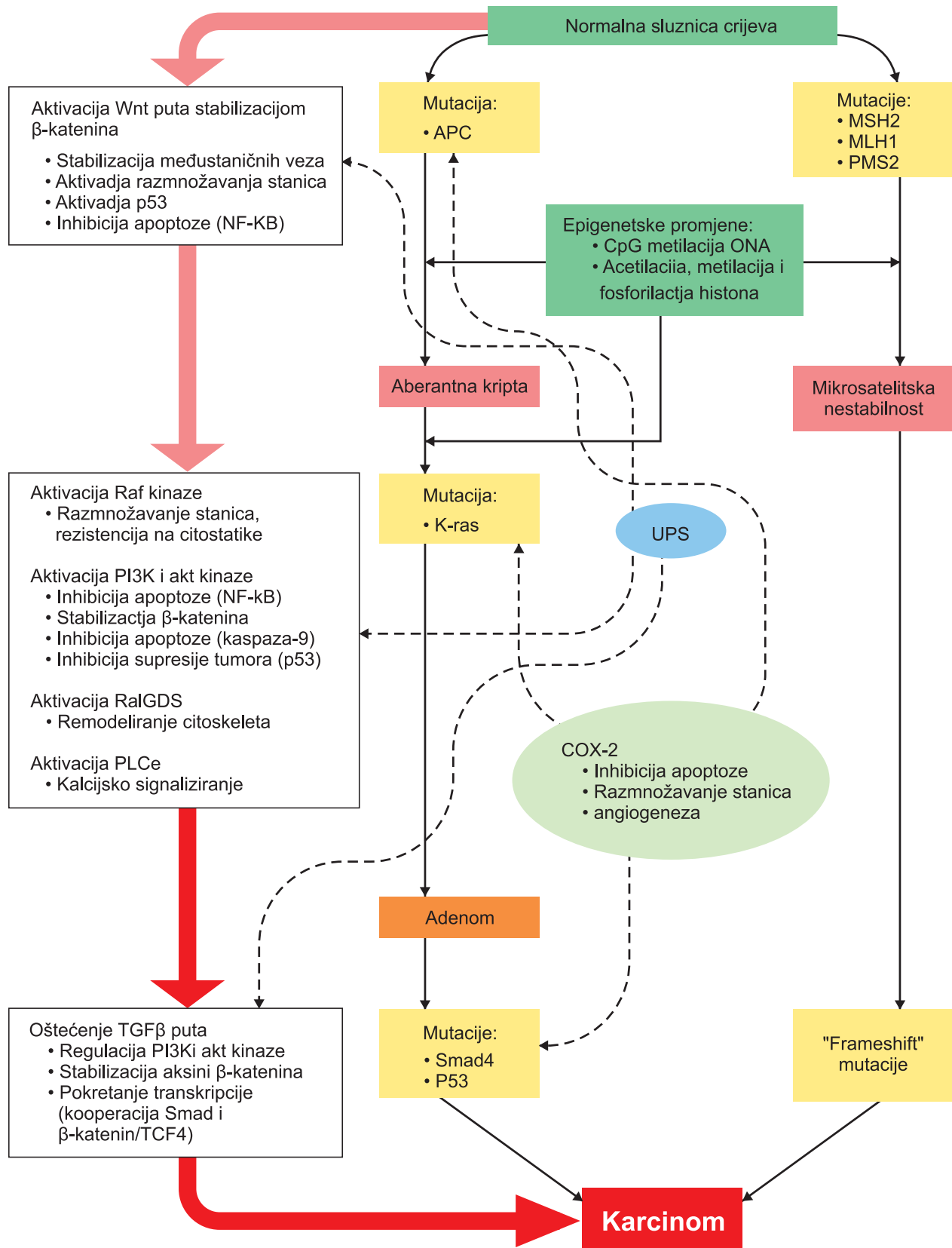
pokreće kalcijско signaliziranje što dovodi do pojačavanja niza promotorskih procesa karcinogeneze u stanicama. Transaktivacijom EGFR aktivira PI3K kinazu i posljedično Akt kinazu u K-ras sustavu [105-107]. Stabilizacija multiproteinskog APC/aksin/ β -katenin/konduktin/GSK-3 β /CKII kompleksa interakcijom s aksinom dovodi do stabilizacije β -katenina i aktivacije Wnt puta, čime se stvara začarani krug pojačane sinteze COX-2 i sinteze PGE2 [108, 109]. Stabilizacija β -katenina rani je događaj u karcinogenezi raka crijeva, predstavlja najvažniji pokretački mehanizam pojačanja ekspresije COX-2 u stanicama tumora te se time dodatno naglašava njezina uloga u karcinogenezi. PGE2 potiče karcinogenezu i modulacijom imunološkog odgovora, odnosno pojačanjem aktivnosti regulacijskih CD4⁺CD25⁺ T limfocita, koji suprimiraju specifične citotoksične T limfocite [110].

Ostali prostaglandini (PGD2, PGF2, PGI2, TXA2) imaju po jedan odgovarajući membranski receptor, a do sada njihov značajan doprinos u karcinogenezi raka crijeva nije dokazan.

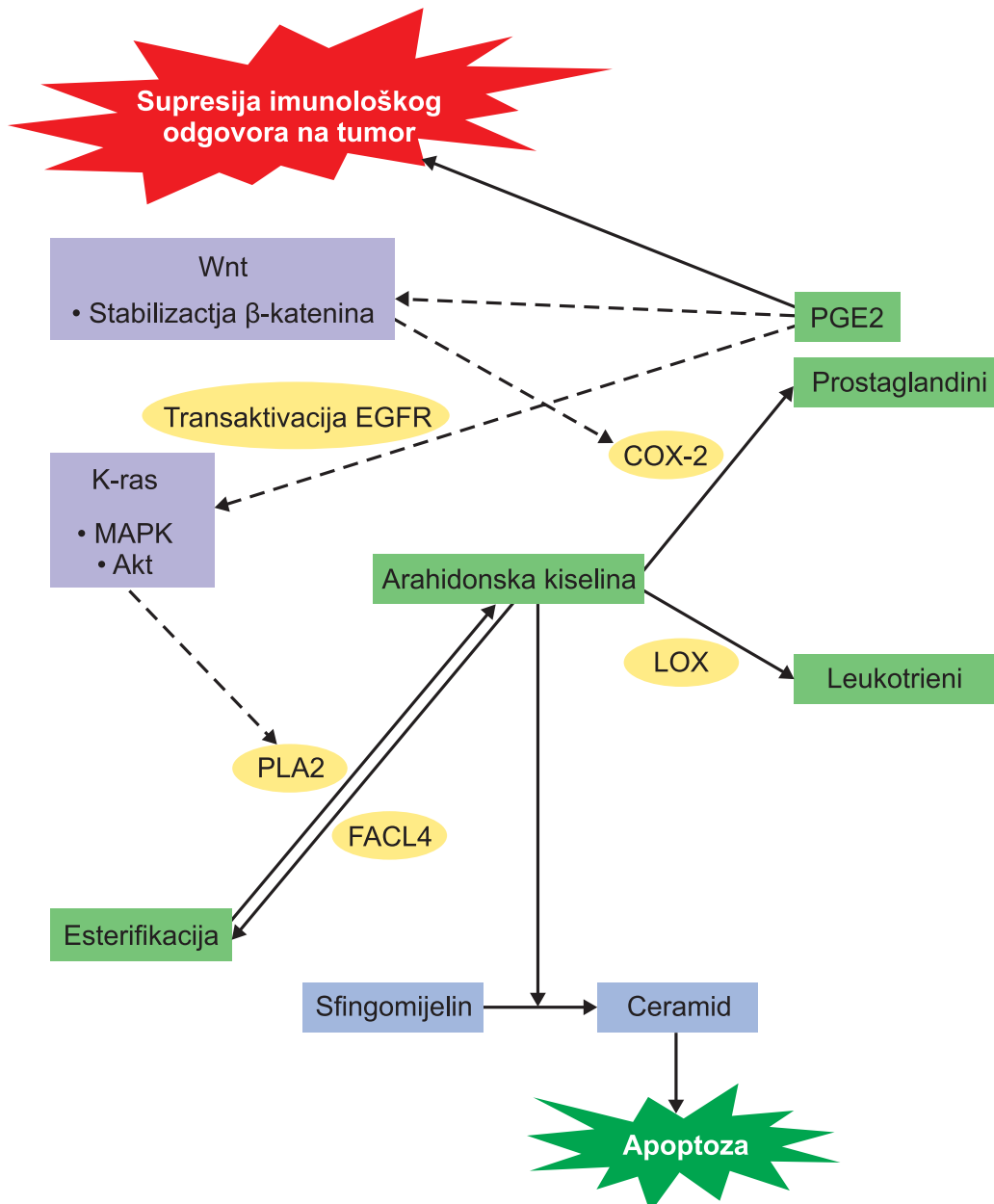
Dodatni naglasak na ulogu COX-2 u karcinogenezi raka crijeva daje njezina uloga u razgradnji arahidonske kiseline. Slobodnu arahidonsku kiselinu proizvodi enzim fosfolipaza A2 (PLA2), COX-2 je prevodi u prostaglandine, lipooksigenaza (LOX) je prevodi u leukotriene, a enzim FACLA (engl. fatty acid CoA ligase 4) je konjugira uz koenzim A. MAPK kaskada K-ras sustava aktivira PLA2 i dovodi do pojačanja sinteze neesterificirane arahidonske kiseline u stanicama tumora, čija je razgradnja iznimno važna u procesu karcinogeneze, budući da njezino nakupljanje aktivacijom hidrolize sfingomijelina potiče proizvodnju proapoptotičkog lipida ceramida [111-113]. Kao i COX-2, i FACLA i LOX pojačano su izražene u stanicama karcinoma crijeva, kao i u stanicama drugih malignih tumora [114-116].

Prikaz metabolizma arahidonske kiseline i njegove povezanosti s karcinogenezom prikazan je na Slici 2.

Slika 1. Ključna oštećenja unutarstaničnih signalnih puteva u karcinogenezi tumora crijeva.



Slika 2. Uloga arahidonske kiseline i njezinih metabolita u karcinogenezi.



Literatura

1. Ferro SA, Cosler LE, Wolff DA, et al. Variation in the cost of treatment for colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 2006 ASCO Annual Meeting Proceedings Part 1. Vol 24, No. 18S (June 20 Supplement), 2006: 3625.
2. Selby J, Friedman GD, Quesenberry CP, et al. A case-control study of screening sigmoidoscopy and mortality from colorectal cancer. *N Engl J Med* 1992;326:653-7.
3. Chan AT. Aspirin, non-steroidal antiinflammatory drugs, and colorectal neoplasia: future challenges in chemoprevention. *Cancer Causes Control* 2003;14:413-8.
4. Baron JA, Cole BF, Sandler RS, et al. A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas. *N Engl J Med* 2003;348:891-9.
5. Sandler RS, Halabi S, Baron JA, et al. A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas in patients with previous colorectal cancer. *N Engl J Med* 2003;348:883-90. (Erratum, *N Engl J Med* 2003;348:1939.)
6. Benamouzig R, Deyra J, Martin A, et al. Daily soluble aspirin and prevention of colorectal adenoma recurrence: one-year results of the APACC trial. *Gastroenterology* 2003;125:328-36.
7. Brown JR, DuBois RN. COX-2: a molecular target for colorectal cancer prevention. *J Clin Oncol* 2005;23:2840-55.
8. Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A, et al. Up-regulation of cyclooxygenase-2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology* 1994;107:1183-8.
9. Zhang H, Sun XF. Overexpression of cyclooxygenase-2 correlates with advanced stages of colorectal cancer. *Am J Gastroenterol* 2002;97:1037-41.
10. Soumaoro LT, Uetake H, Higuchi T, et al. Cyclooxygenase-2 expression: a significant prognostic indicator for patients with colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:8465-71.
11. Bertagnoli MM, Eagle CJ, Zauber AG, et al. Celecoxib for the prevention of sporadic colorectal adenomas. *N Engl J Med* 2006;355:873-4.
12. Arber N, Eagle CJ, Spicak J, et al. Celecoxib for the prevention of colorectal adenomatous polyps. *N Engl J Med* 2006;355:885-95.
13. Baron JA, Sandler RS, Bresalier RS, et al. A randomized trial of rofecoxib for the chemoprevention of colorectal adenomas. *Gastroenterology* 2006;131:1674-82.
14. Kopp E, Ghosh S. Inhibition of NF-kappa B by sodium salicylate and aspirin. *Science* 1994;265:956-9.
15. Schwenger P, Bellosta P, Vietor I, et al. Sodium salicylate induces apoptosis via p38 mitogen-activated protein kinase but inhibits tumor necrosis factor-induced c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:2869-73.
16. Martinez ME, O'Brien TG, Fultz KE, et al. Pronounced reduction in adenoma recurrence associated with aspirin use and a polymorphism in the ornithine decarboxylase gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:7859-64.
17. Chan AT, Ogino S, Fuchs CS. Aspirin and the risk of colorectal cancer in relation to the expression of COX-2. *N Engl J Med* 2007;356:2131-42.
18. Petersen C, Petersen S, Milas L, et al. Enhancement of intrinsic tumor cell radiosensitivity induced by a selective cyclooxygenase-2 inhibitor. *Clin Cancer Res* 2000;6(6):2513-20.
19. Nishimura G, Yanoma S, Mizuno H, et al. A selective cyclooxygenase-2 inhibitor suppresses tumor growth in nude mouse xenografted with human head and neck squamous carcinoma cells. *Jpn J Cancer Res* 1999;90(10):1152-62.
20. Yao R, Rioux N, Castonguay A, et al. Inhibition of COX-2 and induction of apoptosis: two determinants of nonsteroidal anti-inflammatory drugs' chemopreventive efficacies in mouse lung tumorigenesis. *Exp Lung Res* 2000;26(8):731-42.
21. Li M, Lotan R, Levin B, et al. Aspirin induction of apoptosis in esophageal cancer: a potential for chemoprevention. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9(6):545-9.
22. Grossman EM, Longo WE, Panesar N, et al. The role of cyclooxygenase enzymes in the growth of human gall bladder cancer cells. *Carcinogenesis* 2000;21(7):1403-9.
23. Yip-Schneider MT, Sweeney CJ, Jung SH, et al. Cell cycle effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and enhanced growth inhibition in combination with gemcitabine in pancreatic carcinoma cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;298(3):976-85.
24. Richter M, Weiss M, Weinberger I, et al. Growth inhibition and induction of apoptosis in colorectal tumor cells by cyclooxygenase inhibitors. *Carcinogenesis* 2001;22(1):17-25.
25. Nagy JA, Vasile E, Feng D, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor induces lymphangiogenesis as well as angiogenesis. *J Exp Med* 2002;196(11):1497-506.
26. Brehmer B, Biesterfeld S, Jakse G. Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2 and -9) and their inhibitors (TIMP-1 and -2) in prostate cancer tissue. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2003;6(3):217-22.
27. Fodde R, Smiths R, Clevers H. APC, signal transduction and genetic instability in colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 2001;1:55-67.
28. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990;61:759-67.
29. Hisamuddin IM, Yang VW. Molecular genetics of colorectal cancer: an overview. *Cur Colorectal Cancer Rep* 2006;2:53-9.
30. Lynch HT, de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med* 2003;348:919-32.
31. Loeb LA. A mutator phenotype in cancer. *Cancer Res* 2001;61:3230-9.
32. Kondo Y, Issa J-PJ. Epigenetic changes in colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2004;23:29-39.
33. Shen L, Issa J-PJ. Epigenetics in colorectal cancer. *Curr Opin Gastroenterol* 2002;18:68-73.
34. Clevers H. Wnt breakers in colon cancer. *Cancer Cell* 2004;5:5-6.
35. Doble BW, Woodgett JR. GSK-3: tricks of the trade for a multi-tasking kinase. *J Cell Sci* 2003;116:1175-86.
36. Ilyas M. Wnt signaling and the mechanistic basis of tumour development. *J Pathol* 2005;205:130-44.
37. Shtutman M, Zhurinsky J, Simcha I, et al. The cyclin D1 gene is a target of the beta-catenin/LEF-1 pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:5522-7.
38. Wong NACS, Pignatelli M. beta-catenin-A linchpin in colorectal carcinogenesis? *Am J Pathol* 2002;160:389-401.
39. Howe LR, Subbaramaiah K, Chung WJ, et al. Transcriptional activation of cyclooxygenase-2 in Wnt-1-transformed mouse mammary epithelial cells. *Cancer Res* 1999;59:1572-7.
40. Levy L, Neuveut C, Renard CA, et al. Transcriptional activation of interleukin-8 by betacatenin-Tcf4. *J Biol Chem* 2002;277:42386-93.

41. Rockman SP, Currie SA, Ciavarella M, et al. *Id2 is a target of the β -catenin/T cell factor pathway in colon carcinoma.* *J Biol Chem* 2001;276:45113-9.
42. Mann B, Gelos M, Siedow A, et al. *Target genes of β -catenin/T cellfactor/lymphoid-enhancer-factor signalling in human colorectal carcinomas.* *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:1603-8.
43. Willert J, Epping M, Pollack JR, et al. *A transcriptional response to Wnt protein in human embryonic carcinoma cells.* *BMC Dev Biol* 2002;2:8.
44. Dihlmann S, Kloor M, Fallsehr C, et al. *Regulation of AKT1 expression by beta-catenin/Tcf/Lef signaling in colorectal cancer cells.* *Carcinogenesis* 2005;26:1503-12.
45. He T-C, Chan TA, Vogelstein B, et al. *PPAR γ is an APC-regulated target of Non-steroidal antiinflammatory drugs.* *Cell* 1999;99:335-45.
46. Conacci-Sorrell ME, Ben-Yedidia T, Shtutman M, et al. *Nr-CAM is a target gene of the β -catenin/LEF-1 pathway in melanoma and colon cancer and its expression enhances motility and confers tumorigenesis.* *Genes Dev* 2002;16:2058-72.
47. Gavert N, Conacci-Sorrell M, Gast D, et al. *L1, a novel target of β -catenin signaling, transforms cells and is expressed at the invasive front of colon cancers.* *J Cell Biol* 2005;168:633-42.
48. Lustig B, Jerchow B, Sachs M, et al. *Negative feedback loop of wnt signaling through upregulation of conductin/axin2 in colorectal and liver tumors.* *Mol Cell Biol* 2002;22:1184-93.
49. Boon EMJ, van der Neut R, van de Wetering M, et al. *Wnt signaling regulates expression of the receptor tyrosine kinase Met in colorectal cancer.* *Cancer Res* 2002;62:5126-8.
50. Battle E, Henderson JT, Beghtel H, et al. *β -catenin and TCF mediate cell positioning in the intestinal epithelium by controlling the expression of EphB/Ephrin B.* *Cell* 2002;111:251-63.
51. Shtutman M, Zhurinsky J, Oren M, et al. *PML is a target gene of beta-catenin and plakoglobin, and coactivates β -catenin-mediated transcription.* *Cancer Res* 2002;62:5947-54.
52. Steigerwald K, Behbehani GK, Combs KA, et al. *The APC tumor suppressor promotes transcription-independent apoptosis in vitro.* *Mol Cancer Res* 2005;3:78-89.
53. Roura S, Miravet S, Piedra J, et al. *Regulation of E-cadherin/catenin association by tyrosine phosphorylation.* *J Biol Chem* 1999;274:36734-40.
54. Deng J, Miller SA, Wang H-Y, et al. *β -catenin interacts with and inhibits NF- κ B in human colon and breast cancer.* *Cancer Cell* 2002;2:323-34.
55. Kerkhoff E, Rapp UR. *Cell cycle targets of Ras/Raf signalling.* *Oncogene* 1998;17:1457-62.
56. Fujita T, Washio K, Takabatake D, et al. *Proteasome inhibitors can alter the signaling pathways and attenuate the P-glycoprotein-mediated multidrug resistance.* *Int J Cancer* 2005;117:670-82.
57. Cardone MH, Roy N, Stennicke HR, et al. *Regulation of cell death protease caspase-9 by phosphorylation.* *Science* 1998;282:1318-21.
58. Aoki M, Jiang H, Vogt PK. *Proteasomal degradation of the FoxO1 transcriptional regulator in cells transformed by the P3k and Akt oncoproteins.* *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:13613-7.
59. Thomas GV. *mTOR and cancer: reason for dancing at the crossroads?* *Cur Opin Genet Dev* 2006;16:78-84.
60. Cullen PJ, Lockyer PJ. *Integration of calcium and Ras signalling.* *Nature Rev Mol Cell Biol* 2002;3:339-48.
61. Wakefield LM, Roberts AB. *TGF- β signaling: positive and negative effects on tumorigenesis.* *Cur Opin Genet Dev* 2002;12: 22-9.
62. Iglesias M, Frontelo P, Gamallo C, et al. *Blockade of Smad4 in transformed keratinocytes containing a Ras oncogene leads to hyperactivation of the Ras-dependent Erk signalling pathway associated with progression to undifferentiated carcinomas.* *Oncogene* 2000;19:4134-45.
63. Furuhashi M, Yagi K, Yamamoto H, et al. *Axin facilitates Smad3 activation in the transforming growth factor β signaling pathway.* *Mol Cell Biol* 2001;21:5132-41.
64. Labbé E, Letamendia A, Attiasano L. *Association of Smads with lymphoid enhancer binding factor 1/T cell-specific factor mediates cooperative signalling by the transforming growth factor-beta and wnt pathways.* *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:8358-63.
65. Miyaki M, Iijima T, Konishi M, et al. *Higher frequency of Smad4 gene mutations in human colorectal cancer with distant metastasis.* *Oncogene* 1999;18: 3098-103.
66. Parsons R, Myeroff LL, Liu B, et al. *Microsatellite instability and mutations of the transforming growth factor beta type II receptor gene in colorectal cancer.* *Cancer Res* 1995;55:5548-50.
67. Takaku K, Oshima M, Miyoshi H, et al. *Intestinal tumorigenesis in compound mutant mice of both DPC4 (Smad4) and Apc genes.* *Cell* 1998;92:645-56.
68. Yu J, Zhang L. *The transcriptional targets of p53 in apoptosis control.* *Biochem Biophys Res Com* 2005;331:851-8.
69. Yu J, Zhang L, Hwang PM, et al. *Identification and classification of p53-regulated genes.* *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:14517-22.
70. Roperch J-P, Lethrone F, Prieur S, et al. *SlAH-1 promotes apoptosis and tumor suppression through a network involving the regulation of protein folding, unfolding, and trafficking: identification of common effectors with p53 and p21Waf1.* *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:8070-3.
71. Amson RB, Nemani M, Roperch JP, et al. *Isolation of 10 differentially expressed cDNAs in p53-induced apoptosis: activation of the vertebrate homologue of the drosophila seven in absentia gene.* *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:3953-7.
72. Kohn KW, Pommier Y. *Molecular interaction map of the p53 and mdm2 logic elements, which control the off-on switch of p53 in response to DNA damage.* *Biochem Biophys Res Com* 2005;331:816-27.
73. Liu J, Stevens J, Rote CA, et al. *Slah-1 mediates a novel β -catenin degradation pathway linking p53 to the adenomatous polyposis coli protein.* *Mol Cell* 2001;7:927-36.
74. Nakayama K, Ronai Z. *Slah new players in the cellular response to hypoxia.* *Cell Cycle* 2004;3:1345-7.
75. Vaupel P. *The role of hypoxia-induced factors in tumor progression.* *Oncologist* 2004;9(Suppl 5):10-7.
76. Jänne PA, Mayer RJ. *Chemoprevention of colorectal cancer.* *N Engl J Med* 2000;342:1960-8.
77. Hoeller D, Hecker C-M, Dikic I. *Ubiquitin and ubiquitin-like proteins in cancer pathogenesis.* *Nat Rev Cancer* 2006;6:776-88.
78. Amerik AY, Hochstrasser M. *Mechanism and function of deubiquitinating enzymes.* *Biochim Biophys Acta* 2004;1695:189-207.
79. Mani A, Gelmann EP. *The ubiquitin-proteasome pathway and its role in cancer.* *J Clin Oncol* 2005;23:4776-89.
80. Almond JB, Cohen GM. *The proteasome: a novel target for cancer chemotherapy.* *Leukemia* 2002;16:433-43.
81. Ougolkov A, Zhang B, Yamashita K, et al. *Associations among β -TrCP, an E3 ubiquitin ligase receptor, β -catenin, and NF- κ B in colorectal cancer.* *J Natl Cancer Inst* 2004;96:1161-70.
82. Ni T, Li W, Zou F. *The ubiquitin ligase ability of IAPs regulates apoptosis.* *IUBMB Life* 2005;57:779-85.

83. Zhu Z, Ramos J, Kampa K, et al. Control of ASPP2/53BP2L protein levels by proteasomal degradation modulates p53 apoptotic function. *J Biol Chem* 2005;280:34473-80.
84. Friedman J, Xue D. To live or die by the sword: the regulation of apoptosis by the proteasome. *Dev Cell* 2004;7:460-1.
85. Jackson PK. Linking tumor suppression, DNA damage and the anaphase-promoting complex. *Trends Cell Biol* 2004;14:331-4.
86. Araki Y, Okamura S, Perwez Hussain S, et al. Regulation of cyclooxygenase-2 expression by the Wnt and Ras pathways. *Cancer Res* 2003;63:728-34.
87. Chun K-S, Surh Y-J. Signal transduction pathways regulating cyclooxygenase-2 expression: potential molecular targets for chemoprevention. *Biochem Pharmacol* 2004;68:1089-100.
88. Brown JR, DuBois RN. COX-2: a molecular target for colorectal cancer prevention. *J Clin Oncol* 2005;23:2840-55.
89. Castellone MD, Teramoto H, Gutkind JS. Cyclooxygenase-2 and colorectal cancer chemoprevention: the beta-catenin connection. *Cancer Res* 2006;66:11085-8.
90. Syeda F, Grosjean J, Houlston RA, et al. Cyclooxygenase-2 induction and prostacyclin release by protease-activated receptors in endothelial cells requires co-operation between mitogen-activated protein kinase and NF- κ B pathways. *J Biol Chem* 2006;281:11792-804.
91. Matsuura H, Sakaue M, Subbaramaiah K, et al. Regulation of Cyclooxygenase-2 by interferon γ and transforming growth factor α in normal human epidermal keratinocytes and squamous carcinoma cells. *J Biol Chem* 1999;274:29138-48.
92. Yan Z, Subbaramaiah K, Camilli T, et al. Benzo[a]pyrene induces the transcription of cyclooxygenase-2 in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 2000;275:4949-55.
93. Duque J, Díaz-Muñoz MD, Fresno M, et al. Up-regulation of cyclooxygenase-2 by interleukin-1 β in colon carcinoma cells. *Cell Signal* 2006;18:1262-9.
94. Yamaguchi K, Lantowski A, Dannenberg AJ, et al. Histone deacetylase inhibitors suppress the induction of c-Jun and its target genes including Cox-2. *J Biol Chem* 2005;280:32569-77.
95. Howe LR, Crawford HC, Subbaramaiah K, et al. PEA3 is up-regulated in response to Wnt1 and activates the expression of cyclooxygenase-2. *J Biol Chem* 2001;276:20108-15.
96. Meade EA, McIntyre TM, Zimmerman GA, et al. Peroxisome Proliferators enhance Cyclooxygenase-2 expression in epithelial cells. *J Biol Chem* 1999;274:8328-34.
97. Dixon DA, Balch GC, Kedersha N, et al. Regulation of cyclooxygenase-2 expression by the translational silencer TIA-1. *J Exp Med* 2003;198:475-81.
98. Dixon DA, Kaplan CD, McIntyre TM, et al. Post-transcriptional control of cyclooxygenase-2 gene expression. *J Biol Chem*. 2000;275:11750-7.
99. Duque J, Fresno M, Iñiguez MA. Expression and function of the Nuclear Factor of Activated T cells in colon carcinoma cells. *J Biol Chem* 2005;280:8686-93.
100. Smith WL, Garavito RM, DeWitt DL. Prostaglandin endoperoxide H synthases (Cyclooxygenases)-1 and -2. *J Biol Chem* 1996;271:33157-60.
101. Warner TD, Mitchell JA. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs inhibiting prostanoid efflux: as easy as ABC? *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:9108-10.
102. Cutler NS, Graves-Deal R, LaFleur BJ, et al. Stromal production of prostacyclin confers an antiapoptotic effect to colonic epithelial cells. *Cancer Res* 2003;63:1748-51.
103. Ko SC, Chapple KS, Hawcroft G, et al. Paracrine cyclooxygenase-2-mediated signalling by macrophages promotes tumorigenic progression of intestinal epithelial cells. *Oncogene* 2002;21:7175-86.
104. Narumiya S, FitzGerald GA. Genetic and pharmacological analysis of prostanoid receptor function. *J Clin Invest* 2001;108:25-30.
105. Sheng H, Shao J, Washington MK, et al. Prostaglandin E2 increases growth and motility of colorectal carcinoma cells. *J Biol Chem* 2001;276:18075-81.
106. Buchanan FG, Wang D, Bargiacchi F, et al. Prostaglandin E2 regulates cell migration via the intracellular activation of the epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem* 2003;278:35451-7.
107. Pai R, Soreghan B, Szabo I, et al. Prostaglandin E2 transactivates EGF receptor: a novel mechanism for promoting colon cancer growth and gastrointestinal hypertrophy. *Nat Med* 2002;8:289-93.
108. Castellone MD, Teramoto H, Williams BO, et al. Prostaglandin E2 promotes colon cancer cell growth through a Gs- α -beta-catenin signalling axis. *Science* 2005;310:1504-10.
109. Clevers H. Colon cancer- Understanding how NSAIDs work. *N Engl J Med* 2006;354:761-3.
110. Beyer M, Schultze JL. Regulatory T cells in cancer. *Blood* 2006;108:804-11.
111. Hirabayashi T, Murayama T, Shimizu T. Regulatory mechanism and physiological role of cytosolic phospholipase A2. *Biol Pharm Bull* 2004;27:1168-73.
112. Taketo MM, Sonoshita M. Phospholipase A2 and apoptosis. *Biochim Biophys Acta* 2002;1585:72-6.
113. Jayadev S, Hayter HL, Andrieu N, et al. Phospholipase A2 is necessary for Tumor Necrosis Factor α -induced ceramide generation in L929 cells. *J Biol Chem* 1997;272:17196-203.
114. Cao Y, Dave KB, Doan TP, et al. Fatty acid CoA ligase 4 is up-regulated in colon adenocarcinoma. *Cancer Res* 2001;61:8429-34.
115. Sung YK, Hwang SY, Park MK, et al. Fatty acid-CoA ligase 4 is overexpressed in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2003;94:421-4.
116. Ikawa H, Kamitani H, Calvo BF, et al. Expression of 15-lipoxygenase-1 in human colorectal cancer. *Cancer Res*. 1999;59:360-6.