

## 塞来昔布灌肠对溃疡性结肠炎小鼠肠黏膜异型增生的防治作用

孙 荔, 孙 涛

安徽医科大学海军临床学院, 北京 100048

**摘要:** **目的** 探讨不同浓度塞来昔布灌肠对溃疡性结肠炎小鼠肠黏膜异型增生的防治作用, 并分析其可能的作用机制。**方法** 60只 C57BL/6 雄性小鼠随机分为6组(每组10只): 塞来昔布高、中、低剂量组(A、B、C组)、美沙拉秦组(D组)、模型组(E组)、空白组(F组)。氧化偶氮甲烷/葡聚糖硫酸钠(AOM/DSS)复合法制备实验模型, 建模第5天, A、B、C组分别给予1.5 mg/ml、1.0 mg/ml、0.5 mg/ml剂量的塞来昔布灌肠, D组给予美沙拉秦灌肠液灌肠, E组给予同等剂量0.9%氯化钠注射液灌肠。治疗23 d后处死小鼠, 肉眼观察结肠组织变化, 镜下观察结肠病理改变及免疫组化COX-2、CDX-2、BCL-2的表达, Elisa法检测血清细胞因子水平。**结果** 肉眼观察A、B组较E组结肠表面光滑, 血管纹理清晰, C、D组结肠表面欠光滑, 粪便较成型; HE染色A、B两组黏膜较完整, 腺体排列整齐, C组以浅表溃疡为主, D组偶有淋巴细胞浸润, E组以慢性炎症伴轻-中度异型增生为主; 各治疗组血清细胞因子IL-6、TNF- $\alpha$ 的含量较E组均有下降, 其中A、B组TNF- $\alpha$ 下降明显( $P < 0.05$ ); 免疫组化检测COX-2显示A、B组评分明显低于C、D、E组, BCL-2显示A、B、D组评分较C、E组低, CDX-2显示A、B、C、D组评分较E组评分明显升高( $P < 0.05$ )。**结论** 塞来昔布灌肠具有防治溃疡性结肠炎小鼠肠黏膜异型增生的作用, 其中以高、中剂量效果明显; 机制可能与下调COX-2、BCL-2的表达, 减少IL-6、TNF- $\alpha$ 等炎症因子的生成有关。

**关键词:** 塞来昔布; 溃疡性结肠炎; 癌前病变; 小鼠

**中图分类号:** R 574.62; R 735.3; R-332 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2016)01-0063-06 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2016.01.017

**网络出版时间:** 2015-11-06 10:53

**网络出版地址:** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20151106.1053.004.html>

## Prevention and treatment effects of celecoxib via coloclisis in mice with ulcerative colitis associated intestinal mucosa dysplasia

SUN Li, SUN Tao

Navy Clinical College of Anhui Medical University, Beijing 100048, China

Corresponding author: SUN Tao. Email: drsuntao1@163.com

**Abstract: Objective** To compare the prevention and treatment effects of different concentrations of celecoxib via coloclisis in mice with ulcerative colitis associated intestinal mucosa dysplasia and analyze the possible mechanism. **Methods** Sixty C57BL/6 male mice were randomly divided into six groups ( $n=10$ ): the high (A), middle (B), low (C) doses of celecoxib groups, mesalazine group (D), model group (E), blank group (F). Azoxymethane / Dextran sulfate sodium (AOM/DSS) combined technique was used to establish the experimental mouse mode. After modeling for five days, the mice were treated accordingly: mice in experimental group A, B, C were given the high, medium and low doses of celecoxib (1.5 mg/mL, 1.0 mg/mL, 0.5 mg/mL) via coloclisis, mice in group D were given mesalazine via coloclisis, mice in group E were given the same dose of 0.9% sodium chloride injection via coloclisis. The mice were sacrificed at day 23 after treatment, the changes of colon tissue were observed with naked eyes, and the differences of colon pathological changes and expression of immunohistochemistry COX-2, CDX-2, BCL-2 were assayed under microscope. Meanwhile, the levels of serum cytokines were detected by Elisa. **Results** Visually, compared with group E, the colon surface of group A and B were smoother and the vascular texture were clearer. In group C and D, the colon surface was less smooth, while the stool was relatively forming. HE staining showed that there were more complete mucosa, neater glands in group A and B. However, the major types of group C was superficial ulcer, group D was causally with lymphocyte infiltration, group E was mainly chronic inflammation associated with light to moderate hyperplasia. The serum inflammatory cytokines IL-6, TNF- $\alpha$  content of each treatment group declined significantly ( $P < 0.05$ ), the result of immunohistochemical detection showed that COX-2 scores of group A and B were significantly lower than group C, D, E, BCL-2 scores of group A, B, D were significantly lower than group C, E, CDX-2 scores of group A, B, C, D was significantly higher than group E ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Celecoxib via coloclisis has the effect on prevention and treatment of ulcerative colitis associated intestinal mucosa dysplasia and the effect of middle and high dose is obvious, meanwhile, the mechanism may be related with a down-regulation in the expression of COX-2, BCL-2, and the reduction

收稿日期: 2015-06-11

基金项目: 海军科研基金(CHJ11J018)

Supported by the Research Foundation of Naval(CHJ11J018)

作者简介: 孙荔, 女, 在读硕士。研究方向: 消化系病。Email: kong123zhu@126.com

通信作者: 孙涛, 男, 博士, 主任医师, 副院长。Email: drsuntao1@163.com

of production of inflammatory factors IL-6, TNF- $\alpha$ .

**Keywords:** celecoxib; ulcerative colitis; precancerous lesions; mice

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 相关肠黏膜上皮异型增生已明确为结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 的癌前病变之一。随着 UC 癌变率及危险程度的不断升高<sup>[1]</sup>, 对肠黏膜上皮异型增生的防治的研究也显得尤为重要。目前研究的针对预防 UC 癌前病变的化学药物中, 较为明确的为美沙拉秦<sup>[2-3]</sup>。同时, 研究发现肿瘤的发生, 特别是消化道肿瘤的发生与环氧化物酶 2(COX-2) 的高表达有关<sup>[4]</sup>, 塞来昔布作为一种 COX-2 的抑制剂, 对包括结直肠癌在内的多种肿瘤的发生及发展具有干扰作用<sup>[5-7]</sup>。然而塞来昔布经口服可能存在肝、肾功能异常、心血管不良事件等风险, 尤其在老年患者中。因此本研究使用不同浓度的塞来昔布干预 UC 癌变前肠黏膜上皮异型增生状态, 同时经过与阳性预防药物美沙拉秦比较, 简要探讨不同浓度的塞来昔布灌肠对 UC 癌变过程中肠黏膜上皮异型增生的作用及可能作用机制, 为塞来昔布临床应用于 UC 癌变的早期防治提供实验及理论上的依据。

### 材料和方法

**1 实验药物** 塞来昔布 (celecoxib, 国药准字 J20120063) 由 Pfizer Pharmaceuticals LLC 公司生产, 辉瑞制药有限公司进口分包装, 海军总医院药房提供, 本品呈白色粉末状; 美沙拉秦灌肠液 (批准文号: H20100253), 由 Dr.Falk Pharma GmbH 企业生产, 海军总医院药房提供, 本品为乳白色至淡棕色均匀混悬状液体; 氧化偶氮甲烷 (azoxymethane, AOM): 美国 Sigam 公司, 货号 A5486。葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium salt, DSS, 分子量 36 000 ~ 50 000): 美国 MP 生物公司, 货号 160110; COX-2、CDX-2、BCL-2 抗体: 北京中山金桥生物科技有限公司; 小鼠 IL-6、TNF- $\alpha$  ELISA 试剂盒: 武汉博士德生物工程有限公司, 货号 EK0411、EK0527 等。

**2 实验动物** 4 ~ 5 周龄 C57BL/6 雄性小鼠 60 只, SPF 级, 体质量 16 ~ 18g, 购于北京斯贝福实验动物科技有限公司 [许可证号 SCXK(京)2011-0004], 饲养于中国人民解放军第 304 医院 SPF 级动物实验室。实验前, 所有小鼠处于室温 (24 ~ 25 $^{\circ}$ C), 相对湿度 40% ~ 60%, 自然光照周期条件下分笼适应性喂养 1 周, 期间给予 SPF 级标准动物饲料,

自由饮水。

**3 实验模型的建立及分组处理** 60 只 C57BL/6 雄性小鼠随机分为 6 组, 每组 10 只: A 组为塞来昔布高剂量组 (1.5 mg/ml), B 组为塞来昔布中剂量组 (1.0 mg/ml), C 组为塞来昔布低剂量组 (0.5 mg/ml), D 组为美沙拉秦组, E 组为模型组, F 组为空白组。除 F 组外, 其他各组均按照 Neufert 等<sup>[8]</sup>的 AOM/DSS 标准方案建立 UC 相关 CRC 模型: 给予小剂量 AOM(10 mg/kg) 单次腹腔注射, 1 周后给予 2% DSS 7 d, 正常饮水, 14 d 为 1 个循环, 共 3 个循环进行喂养。在腹腔注射第 5 天, A、B、C 组分别给予 1.5 mg/ml、1.0 mg/ml、0.5 mg/ml 剂量的塞来昔布灌肠<sup>[5]</sup>, D 组给予美沙拉秦灌肠液灌肠, E 组给予同等剂量 0.9% 氯化钠注射液灌肠。每次灌肠药量为 0.1 ml/10 g<sup>[3]</sup>, 每天灌肠 1 次, 持续时间为 23 d (建模后第 4 周末)。

**4 标本采集** 全部小鼠于实验第 4 周末处死。乙醚麻醉后眼球取血收集血液, 静置 0.5 h 后 3 000 r/min 离心 5 min, 取血清, -20 $^{\circ}$ C 冻存, 用于血液学检查。小鼠取血后脱颈处死, 迅速剖取回盲瓣至肛门处全部结肠及脾脏, 取组织严重处置于 10% 甲醛溶液中固定, 用于 HE 染色、免疫组化检查等。

**5 检测** 1) 小鼠状态及组织学观察: 各组小鼠毛发颜色、精神活动、体质量变化、粪便性状、粪便隐血或便血、死亡等情况。小鼠全结肠观察: 结肠大体形态及有无病变, 判断病变程度及其与周围组织有无粘连, 并对结肠损伤情况进行评分, 同时观察脾脏大小、颜色、形态等改变<sup>[9]</sup>。小鼠结肠病理组织学观察: 将固定好的小鼠结肠组织进行 HE 染色, 盲法读片, 根据结肠标准评分<sup>[10]</sup>及异型增生评价标准<sup>[11]</sup>, 观察结肠组织形态学变化。

**6 酶联法检测** 小鼠血清 IL-6、TNF- $\alpha$  水平 -20 $^{\circ}$ C 保存的小鼠血清, 置于常温下解冻 0.5 h, 按 ELISA 试剂盒产品使用说明书, 采用酶联免疫双抗夹心法, 在预包被的 96 孔板上经过单抗包被-抗原-酶标二抗-底物显色等步骤通过酶标仪在 450 nm 测定 OD 值, 绘制标准曲线, 测定小鼠血清 IL-6、TNF- $\alpha$  浓度。

**7 免疫组化检测** COX-2、CDX-2、BCL-2 表达 将包埋小鼠结肠组织进行切片, 采用 SP 法经过脱蜡、水化、抗原修护、滴加一抗、滴加二抗、显

色、固封等步骤在光镜下随机选取5个高倍镜视野,观察结肠组织COX-2、CDX-2、BCL-2检测结果,用染色强度与细胞阳性率评分的乘积进行评分<sup>[12]</sup>。

**8 统计学分析** 采用SPSS19.0统计软件进行数据分析及处理。定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用ANOVA对多组样本均值间进行方差分析,方差齐性者使用LSD法两两比较,方差不齐者使用Tamhane方法处理数据;定性资料采用 $\chi^2$ 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ ,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结果

**1 小鼠状态变化** 实验过程中F组小鼠精神状态好,反应灵敏,毛色黑亮光泽,饮食、粪便均正常,体质量随喂养时间正常增加。E组在第2周喂养2% DSS溶液2~3 d时出现精神萎靡、反应迟钝、毛色暗淡、脱毛、食欲缺乏等症状,3~4 d后开始出现体质量下降,4~5 d时体质量下降明显,粪便呈细条状软便,质稀,伴有黏液、血便。其他各治疗组(A~D组)小鼠较上述症状均有所好转,体质量较E组丢失较少,血便次数也明显减少,且A、B组体质量较E组也明显减少。实验过程中,E组死亡3只,C组及D组各死亡2只。体质量变化如图1。

**2 肉眼结肠形态** 肉眼可见F组结肠黏膜光滑,

血管纹理清晰,无充血、水肿、溃疡等变化,肠腔内粪便性状正常,脾脏鲜红,大小正常;E组肠壁增厚,血管纹理不清,结肠黏膜苍白,具有不平感,部分小鼠结肠可见散在、少量微小平坦隆起,近端结肠偶伴有微量充血、水肿改变,肠腔内粪便不成形,粗细不等,偶伴有黄白色黏液,脾脏暗红色,体积明显增大;其他各治疗组以上症状较E组均有所改善,其中C组、D组结肠表面欠光滑,但无充血、水肿,粪便粗细较均匀,无黄白色黏液。A组与B组小鼠结肠光滑,血管纹理清新,肠腔内粪便较其他组粗细均匀,无黄白黏液。肉眼损伤评分见表1。

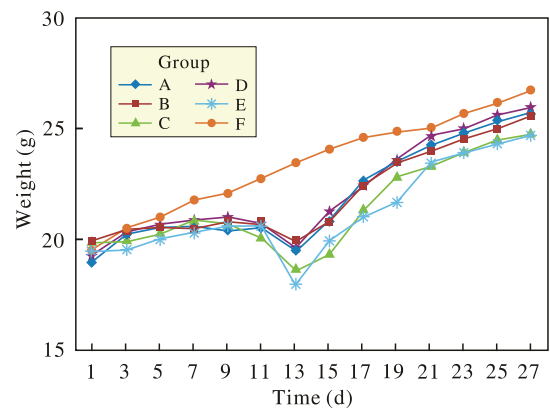


图1 各小组实验前后体质量变化

Fig.1 Weight changes of mice in each group before and after experiment

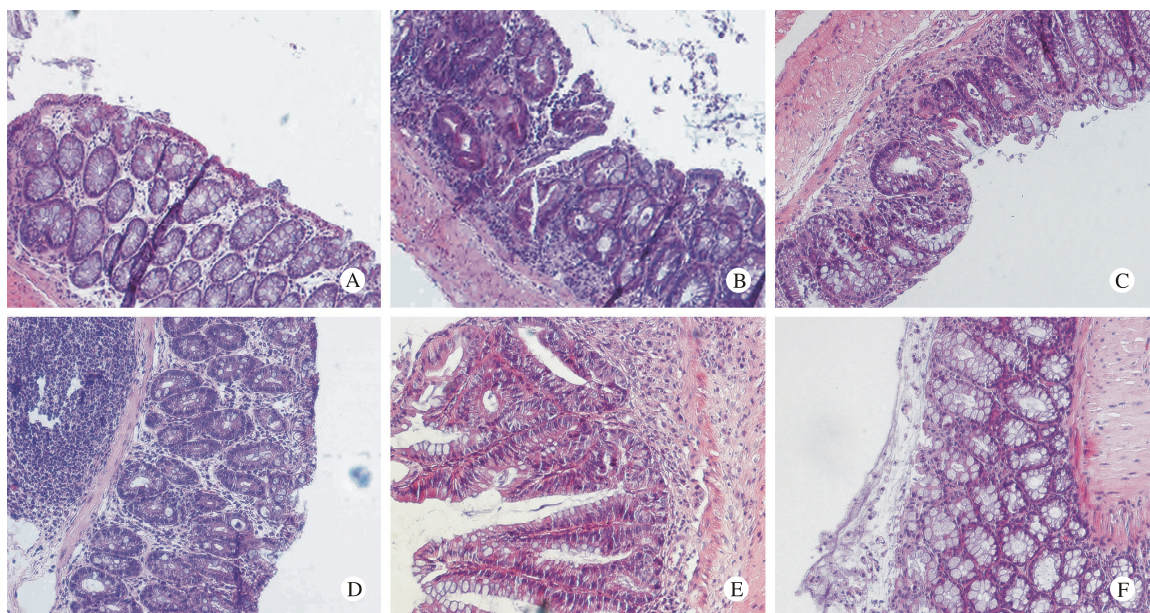


图2 小鼠结肠组织病理改变(HE×200) A:高剂量塞来昔布组;B:中剂量塞来昔布组;C:低剂量塞来昔布组;D:美沙拉秦组;E:模型组;F:正常对照组

Fig.2 Pathological-changes in colon of mice (HE staining×200) A: high dose group of celecoxib; B: middle dose group of celecoxib; C: low dose group of celecoxib; D: Mesalazine group; E: model group; F: blank group

**3 镜下病理形态** 镜下可见 F 组黏膜上皮完整,腺体排列整齐,结构完整,为正常结肠黏膜。E 组黏膜上皮脱落,腺体大小不等,排列紊乱,腺体开口较大,或呈倒三角形,周围炎症细胞浸润,部分腺体内出现异常增生细胞,伴有多处浅表及深溃疡形成,呈现慢性炎症改变伴轻-中度异型增生。其他各组较模型组均有改善。其中 C 组及 D 组黏膜较完整,腺体排列较整齐,但 D 组伴有淋巴细胞浸润,无明显溃疡形成, C 组少量炎症细胞浸润,伴有浅表溃疡形成。A 组及 B 组黏膜较完整,腺体排列整齐,无明显炎症细胞浸润、溃疡形成。损伤评分见表 1,病理表现见图 2。

**4 血清 IL-6、TNF- $\alpha$  表达** Elisa 检测结果显示, E 组较 F 组表达升高 ( $P < 0.05$ )。与 E 组比较,各治疗组 IL-6、TNF- $\alpha$  含量均下降,其中各治疗组间 IL-6 下降差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), A、B 组 TNF- $\alpha$  与其他各治疗组相比,下降差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

**5 免疫组化检测 COX-2、CDX-2、BCL-2 表达**  
1)COX-2: E 组较 F 组 COX-2 显色明显加深,表达量明显增多 ( $P < 0.05$ )。与 E 组相比,各治疗组 COX-2 显色及表达均有不同程度下降, A、B 组与 C、D 组差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。2)BCL-2: E 组显色较深,表达量较多, F 组表达多为阴性或少有表达,两者差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与 E 组相比, C 组表达减少但无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), A、B、D 组表达下降且与 E 组差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 此三组之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。3)CDX-2: 与 F 组比较, E 组 CDX-2 染色较浅,表达明显减少。与 E 组比较,其他各治疗组 CDX-2 的表达均有增加 ( $P < 0.05$ ), 但各治疗组中 CDX-2 表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。免疫组化结果及评分见图 3、表 3。

表 1 小鼠肉眼及电镜下黏膜损伤评分

Tab. 1 Mucosal injury score of mice under naked eyes and microscope in each group ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	Naked eye	Microscope
A (n=10)	0.40 $\pm$ 0.52 <sup>a</sup>	0.30 $\pm$ 0.48 <sup>a</sup>
B (n=10)	0.60 $\pm$ 0.52 <sup>b</sup>	0.40 $\pm$ 0.52 <sup>b</sup>
C (n=8)	2.88 $\pm$ 0.83 <sup>c</sup>	2.25 $\pm$ 0.89 <sup>c</sup>
D (n=8)	2.25 $\pm$ 1.28 <sup>d</sup>	0.88 $\pm$ 0.64 <sup>d</sup>
E (n=7)	6.29 $\pm$ 0.76	4.29 $\pm$ 1.11
F (n=10)	0	0

Mucosal injury score of mice with naked eyes: <sup>a</sup> $P < 0.05$ , vs group C, E; <sup>b</sup> $P < 0.05$ , vs group C, E; Mucosal injury score of mice under microscope: <sup>c</sup> $P < 0.05$ , vs all other groups; <sup>d</sup> $P > 0.05$ , vs group B, D; <sup>b</sup> $P < 0.05$ , vs group C

表 2 各组小鼠血清细胞因子含量

Tab. 2 Serum cytokine levels of mice in each group ( $\bar{x} \pm s$ , pg/ml)

Group	IL-6	TNF- $\alpha$
A (n=10)	40.60 $\pm$ 4.99 <sup>a</sup>	14.46 $\pm$ 2.20 <sup>a</sup>
B (n=10)	45.20 $\pm$ 4.02 <sup>b</sup>	11.00 $\pm$ 1.20 <sup>b</sup>
C (n=8)	31.96 $\pm$ 2.71 <sup>c</sup>	98.84 $\pm$ 2.02 <sup>c</sup>
D (n=8)	52.42 $\pm$ 3.62 <sup>d</sup>	88.88 $\pm$ 2.40 <sup>d</sup>
E (n=7)	93.44 $\pm$ 4.64 <sup>e</sup>	225.66 $\pm$ 6.30 <sup>e</sup>
F (n=10)	42.20 $\pm$ 2.62	106.80 $\pm$ 3.00

IL-6: <sup>a</sup> $P < 0.05$ , vs group E; TNF- $\alpha$ : <sup>a</sup> $P > 0.05$ , vs group B; <sup>b</sup> $P < 0.05$ , vs group C, D

表 3 各组小鼠结肠黏膜免疫组化评分

Tab. 3 Immunohistochemical score of mice in each group ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	COX-2	BCL-2	CDX-2
A (n=10)	1.40 $\pm$ 0.52 <sup>a</sup>	0.90 $\pm$ 0.74 <sup>a</sup>	4.00 $\pm$ 1.25 <sup>a</sup>
B (n=10)	1.50 $\pm$ 0.53 <sup>b</sup>	1.00 $\pm$ 0.82 <sup>b</sup>	3.90 $\pm$ 0.88 <sup>b</sup>
C (n=8)	2.50 $\pm$ 0.93 <sup>c</sup>	2.75 $\pm$ 1.04 <sup>c</sup>	4.13 $\pm$ 1.25 <sup>c</sup>
D (n=8)	2.63 $\pm$ 0.74 <sup>d</sup>	1.25 $\pm$ 0.89 <sup>d</sup>	4.00 $\pm$ 0.93 <sup>d</sup>
E (n=7)	5.43 $\pm$ 1.99 <sup>e</sup>	3.26 $\pm$ 0.76 <sup>e</sup>	2.57 $\pm$ 0.79 <sup>e</sup>
F (n=10)	2.10 $\pm$ 0.74	0	6.10 $\pm$ 1.79

COX-2: <sup>a</sup> $P < 0.05$ , vs group C, E; <sup>b</sup> $P < 0.05$ , vs group C; BCL-2: <sup>a</sup> $P < 0.05$ , vs group C; CDX-2: <sup>a</sup> $P < 0.05$ , vs group E

## 讨论

UC 相关肠黏膜上皮异型增生使 UC 在 35 年内发生癌变风险的可能性增加至 30%<sup>[13-14]</sup>, 这可能与 DNA 的甲基化、染色体及微卫星的不稳定、炎症因子反复刺激等有关<sup>[15]</sup>。塞来昔布作为具有干扰肿瘤发生发展的非甾体抗炎药, 具有胃肠道不良反应小、防止肠下垂等优点<sup>[16-17]</sup>。本实验研究显示, 各治疗组病理结果较 E 组均有不同程度改善, 且 A、B 组效果明显, 这表明高、中剂量塞来昔布灌肠效果较低剂量明显。然而在检测血清细胞炎症因子观察药物全身效果时显示 A、B 组 IL-6、TNF- $\alpha$  浓度虽然均有降低, 但各治疗组中 IL-6 下降无明显差异, 而 A、B 组 TNF- $\alpha$  下降明显, C 组 TNF- $\alpha$  浓度趋近于 F 组浓度。由于 IL-6 主要反映全身炎症, 且能抑制 TNF- $\alpha$  表达, 而 TNF- $\alpha$  与炎症、增生、肿瘤等损伤均相关且能促进 IL-6 的表达, 因此我们推测可能是该药物的高剂量使用加大了两组相互调节作用。COX-2 浓度与结直肠上皮的异型增生及肿瘤的发生、分化、浸润及转移有密切关系<sup>[18]</sup>。BCL-2 与抑制细胞凋亡有关, 在正常肠道组织中不表达或少量表达<sup>[19]</sup>。CDX-2 是消化系统中正常肠道上皮特异性表达的产物, 其浓度与黏膜的异型增生及肿瘤的发生呈

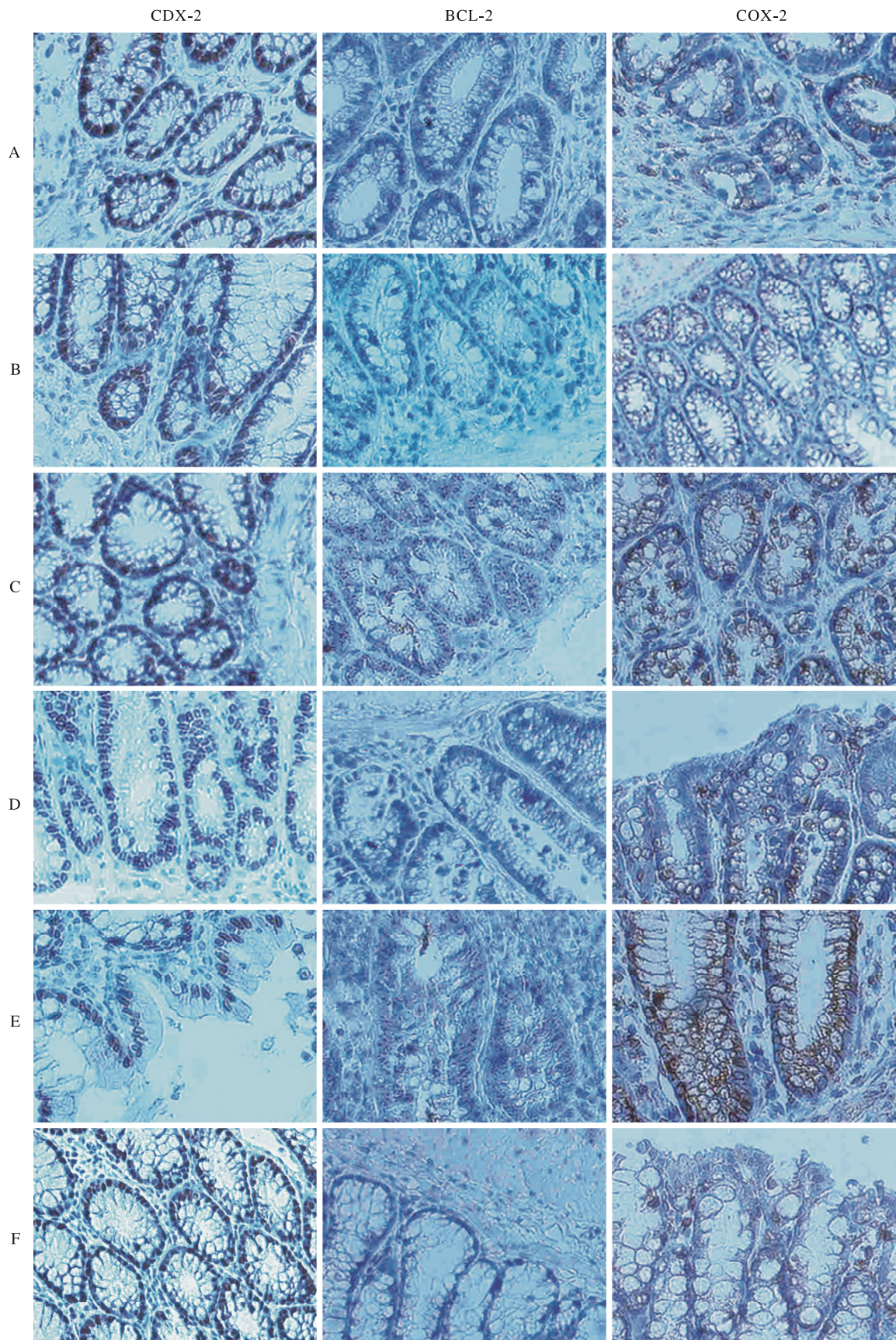


图 3 镜下各组小鼠结肠组织免疫组化表达 (免疫组化  $\times 400$ )

Fig.3 Expression of immunohistochemical in colon of mice (immunohistochemical staining  $\times 400$ )

A: high dose group of celecoxib; B: middle dose group of celecoxib; C: low dose group of celecoxib; D: Mesalazine group; E: model group; F: blank group

明显负相关,且有报道显示,其与肠道 BCL-2 表达也有相互作用<sup>[20]</sup>。本研究结果显示,COX-2 中 A、B 组评分较 E 组明显降低,同时低于 C、D 组,BCL-2 表达评分中 A、B、D 组评分明显低于 C、E 组,两者均可支持病理学结果。而 CDX-2 治疗组间无明显差异,结果与病理改变稍有不同,但我们不能排除这是由于药物特性及肠道上皮特异性表达相互影响或其作用使 CDX-2 的表达在该损伤中表达不明显。

综上,塞来昔布经灌肠可达到防治 UC 相关肠黏膜上皮异型增生的作用,在改善轻-中度异型增生中以高、中浓度塞来昔布效果明显。其机制可能与下调 COX-2、BCL-2 的表达,减少 IL-6、TNF- $\alpha$  等炎性因子生成有关<sup>[21-23]</sup>。同时,我们也不能排除该机制与药物对免疫功能的调节以及对 CDX-2 的调控有关<sup>[24-26]</sup>。在 UC 发展至异型增生过程中,塞来昔布是否可以与美沙拉秦联合使用,以及治疗时机、标准等均需要在后续研究中探讨。

#### 参考文献

- Gong W, Lv N, Wang B, et al. Risk of ulcerative colitis-associated colorectal cancer in China: a multi-center retrospective study [J]. *Dig Dis Sci*, 2012, 57 (2): 503-507.
- Xu XR, Xu XF, Ciren Y, et al. Chemopreventive effects of 5-amino salicylic acids on inflammatory bowel disease-associated colonic cancer and colonic dysplasia: a meta-analysis [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8 (2): 2212-2218.
- Nomoto H, Hayashi Y, Shinozaki S, et al. Ulcerative colitis-associated pulmonary nodules with cavity formation successfully treated with mesalazine and granulocyte-monocyte apheresis [J]. *Clin J Gastroenterol*, 2014, 7 (6): 476-480.
- Shomaf M, Al-Motasseem Y, Ababna N, et al. Cyclooxygenase-2 (COX2) gene polymorphisms and the risk of sporadic colorectal cancer and polyps among Jordanian population [J]. *Turk J Gastroenterol*, 2015, 26 (2): 154-158.
- Wang H, Ke F, Zheng J. Hedgehog-glioma-associated oncogene homolog-1 signaling in colon cancer cells and its role in the celecoxib-mediated anti-cancer effect [J]. *Oncol Lett*, 2014, 8 (5): 2203-2208.
- Zhang XQ, Sun XE, Liu WD, et al. Synergic effect between 5-fluorouracil and celecoxib on hypoxic gastric cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11 (2): 1160-1166.
- Garcia M, Velez R, Romagosa C, et al. Cyclooxygenase-2 inhibitor suppresses tumour progression of prostate cancer bone metastases in nude mice [J]. *BJU Int*, 2014, 113 (5b): E164-E177.
- Neufert C, Becker C, Neurath MF. An inducible mouse model of colon carcinogenesis for the analysis of sporadic and inflammation-driven tumor progression [J]. *Nat Protoc*, 2007, 2 (8): 1998-2004.
- Lukas M. Inflammatory bowel disease as a risk factor for colorectal cancer [J]. *Dig Dis*, 2010, 28 (4-5): 619-624.
- Schneikert J, Behrens J. The canonical Wnt signalling pathway and its APC partner in colon cancer development [J]. *Gut*, 2007, 56 (3): 417-425.
- Varghese S, Newton R, Ross-Innes CS, et al. Analysis of Dysplasia in Patients with Barrett's Esophagus Based on Expression Pattern of 90 Genes [J/OL]. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016508515010859>.
- Kochi T, Shimizu M, Shirakami Y, et al. Utility of Apc-mutant rats with a colitis-associated colon carcinogenesis model for chemoprevention studies [J]. *Eur J Cancer Prev*, 2015, 24 (3): 180-187.
- 王玮,周艳宏,李夏雨,等.巨噬细胞在溃疡性结肠炎癌变中的作用 [J]. *中南大学学报:医学版*, 2012 (6): 637-641.
- Rogler G. Chronic ulcerative colitis and colorectal cancer [J]. *Cancer Lett*, 2014, 345 (2, SI): 235-241.
- 苏婧玲,刘占举.溃疡性结肠炎相关结肠癌变机制研究进展 [J]. *世界华人消化杂志*, 2010, 18 (19): 2008-2012.
- Fornai M, Antonioli L, Colucci R, et al. NSAID-induced enteropathy: are the currently available selective COX-2 inhibitors all the same? [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2014, 348 (1): 86-95.
- McDonald BF, Quinn AM, Devers T, et al. In-vitro characterisation of a novel celecoxib microbead formulation for the treatment and prevention of colorectal cancer [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2015, 67 (5): 685-695.
- Vosooghi M, Amini M. The discovery and development of cyclooxygenase-2 inhibitors as potential anticancer therapies [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2014, 9 (3): 255-267.
- Balzi M, Ringressi MN, Faraoni P, et al. B-cell lymphoma 2 and  $\beta$ -catenin expression in colorectal cancer and their prognostic role following surgery [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12 (1): 553-560.
- Salari K, Spulak ME, Cuff J, et al. CDX2 is an amplified lineage-survival oncogene in colorectal cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109 (46): E3196-E3205.
- Setia S, Nehru B, Sanyal SN. Upregulation of MAPK/Erk and PI3K/Akt pathways in ulcerative colitis-associated colon cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2014, 68 (8): 1023-1029.
- Pandurangan AK, Dharmalingam P, Sadagopan SK, et al. Luteolin induces growth arrest in colon cancer cells through involvement of Wnt/ $\beta$ -catenin/GSK-3 $\beta$  signaling [J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2013, 32 (2): 131-139.
- Bodur C, Kutuk O, Karsli-Uzunbas G, et al. Pramanicin analog induces apoptosis in human colon cancer cells: critical roles for Bcl-2, Bim, and p38 MAPK signaling [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (2): e56369.
- Lee SY, Choi HK, Lee KJ, et al. The immune tolerance of cancer is mediated by IDO that is inhibited by COX-2 inhibitors through regulatory T cells [J]. *J Immunother*, 2009, 32 (1): 22-28.
- 杨梅芳,赵云涛,张敬礼.癌症患者免疫功能状态与血浆 PGE<sub>2</sub> 和血清 IgG 变化 [J]. *军医进修学院学报*, 1991, 12 (4): 371-372.
- Schwandt A, Garcia JA, Elson P, et al. Clinical and immunomodulatory effects of celecoxib plus interferon-alpha in metastatic renal cell carcinoma patients with COX-2 tumor immunostaining [J]. *J Clin Immunol*, 2011, 31 (4): 690-698.