

Paclitaxel Stimulates Cyclooxygenase-2 Expression via MAP Kinase Pathway in Rabbit Articular Chondrocytes

Jeong Hee Im and Song Ja Kim[†]

Department of Biological Sciences, College of Natural Sciences, Kongju National University, Korea

Paclitaxel, an antimicrotubule agent, binds to beta-tubulin in the microtubule and stabilizes the polymer, thereby repressing dynamic instability. Here, we have demonstrated that microtubule cytoskeletal architecture involved in regulation of the COX-2 expression in chondrocyte treated with paclitaxel. Paclitaxel enhanced COX-2 expression and prostaglandin E2 production, as indicated by the Western blot analysis, reverse transcriptase PCR (RT-PCR) and immunofluorescence staining, and PGE₂ assay, respectively. In our previous data have shown that paclitaxel treatment stimulated activation of ERK-1/2 and p38 kinase (Im et al., 2009). SB203580, an inhibitor of p38 kinase, blocked the induction of COX-2 expression by paclitaxel. Also PD98059, an inhibitor of ERK-1/2 kinase was blocked the induced COX-2 expression. These results indicate that activation of ERK-1/2 and p38 kinase is required for COX-2 expression induced by paclitaxel in rabbit articular chondrocytes.

Key Words: Paclitaxel, Cytoskeleton, Cyclooxygenase-2, MAP kinase

서 론

Cyclooxygenase (COX)는 아라키돈산을 prostanoids (prostaglandins, prostacyclins와 thromboxanes)으로 바꾸는 과정의 반응속도를 제한시키는 주요 효소이다. COX는 2 종류의 isoform이 있는데, 그 중 하나인 COX-1은 대부분 정상 조직에서 발현되어 세포나 조직의 항상성을 유지하는 기능을 하는 것으로 알려져 있다 (Kargman et al., 1995). 한편, COX-2는 일반적으로 사이토카인, lipopolysaccharide (LPS)나 여러 자극에 반응해 염증이나 종양이 발생된 조직에서 발현이 증가된다 (Min et al., 2004; Ulivi et al., 2008).

COX-2는 관절염의 치료, 통증과 압 치료에 있어 매우 중요한 효소로 알려져 있다 (Anderson et al., 1996; Lipsky et al., 1997; Dannenberg et al., 1999). 예를 들면, 류마티스 관절염의 활막과 같은 염증성 조직에서 COX-2가 증가하는데 (Crofford et al., 1994), 이때 선택적인 COX-2 억제제를 사용함으로써 관절염을 치료한다 (Lipsky et al., 1997).

형질전환세포나 여러 악성종양 조직에서도 COX-2의 과다발현이 일어나는데 (Subbaramaiah et al., 1997; Kargman et al., 1995; Ristimaki et al., 1997), COX-2를 억제하였을 경우 장과 피부에서 암의 발생을 억제하였다 (Kawamori et al., 1998; Fischer et al., 1999). 이 결과는 COX-2를 유도하는 화합물은 암 또는 염증에 걸리기 쉽게 할 수 있다고 가정할 수 있다.

최근에 actin 세포골격의 구조는 연골세포에서 COX-2의 발현을 조절하는 중요한 조절인자로 알려졌다 (Kim et al., 2002). Cytochalasin D에 의한 actin 세포골격의 붕괴는 PI3-Kinase, AKT, MAP Kinase, PKC- α 와 PKC- ζ 와 같은 세포신호 전달과정을 조절하여 산화질소에 의한 연골세포의 탈분화와 세포 자가사멸을 억제하며 COX-2의 발현을 저해하는 것으로 나타났다. 하지만 JAS에 의한 actin 세포골격의 재구성은 오히려 연골세포의 탈분화와 염증 반응 단백질인 COX-2의 발현을 유도하는 것으로 밝혀졌다 (Kim et al., 2003). 이처럼, actin 세포골격 단백질과 함께 세포골격의 주요 구성인자인 미세소관은 α 와 β tubulin으로 구성된 heterodimer subunit이 조합된 중합체이다. 미세소관은 모든 진핵세포에 존재하며 분화, 염증반응, 유사분열, 세포내 수송, 세포이동, 세포극성유지 등에 중요한 역할을 한다 (Subbaramaiah et al., 2000; Karmakar et al., 2007).

Paclitaxel은 1963년 처음 주목나무 (Yew, *Taxus brevifolia*)

*논문 접수: 2009년 6월 8일

수정재접수: 2009년 6월 15일

[†]교신저자: 김송자, (우) 314-701 충남 공주시 신관동 182번지,

공주대학교 자연과학대학 생명과학과

Tel: 041-850-8507, Fax: 041-850-0927

e-mail: ksj85@kongju.ac.kr

의 껍질에서 분리되어 1971년에 화학구조가 규명되었고 탁월한 항암효과를 나타내는 시약 중 의 하나로 여러 암 세포에서 항암효과를 나타내는 것으로 알려져 있다 (Gallagher, 2007; Andreopoulou et al., 2008; Singh et al., 2008). Paclitaxel은 β -tubulin과 결합하여 미세소관을 중합체 상태로 안정화시킴으로써 세포를 후기 G2/M기에 머물게 하여 세포분열을 억제한다 (Arnal and Wade, 1995). 이 같은 유사분열의 억제 기능을 통해 항암제로서의 기능을 하는 것으로 보여진다 (Horwitz, 1992). 다른 연구에서는 paclitaxel이 콜라겐 유도 관절염을 완전하게 저해하였으며 (Brahn and Banquigo, 1994; Houry and O'Sullivan, 1995), 류마티스 관절염이 유도된 쥐에 paclitaxel을 처리하였을 때 관절염과 활액성 병리가 사라졌다고 보고되었다. 이러한 결과들은 paclitaxel이 관절염 억제제로서의 기능을 가지고 있다는 것을 보여주는 것이라 하겠다. 그러나, 관절염 치료에 있어서 paclitaxel이 관절 연골세포에서 COX-2를 조절하는 작용 기작에 대해서는 앞으로 많은 연구가 필요하다.

본 연구에서는 토끼 무릎관절 연골세포에서 미세소관의 탈중합을 억제하는 paclitaxel을 처리하여 미세소관의 세포골격 구조의 변화가 COX-2의 발현을 어떻게 조절하는지에 대해 알아보았다.

재료 및 방법

1. Cell culture

토끼 무릎 연골세포의 추출은 2주된 New Zealand White 종의 토끼로부터 추출하였다. 추출방법은 치사량의 Diethyl ether로 토끼를 치사 시킨 후 뒷다리 관절부분을 포함한 요골과 장골을 적출한다. 적출한 관절로부터 연골을 절편하여 0.2% collagen 분해효소 (381 U/mg 고상, Sigma)가 함유된 PBS 완충용액에 넣고 37°C에서 7시간 동안 반응시켜 세포를 조직에서 분리시킨다. 녹지 않은 조직과 추출된 세포는 원심분리를 이용하여 나눈 후, 상층액을 모은다. 상층액에 분리되어 있는 세포는 원심분리로 다시 분리 후 상층액을 제거하여 세포만 모은다. 모은 세포는 10%의 FBS (fetal bovine serum), 50 μ g/ml의 streptomycin, 50 units/ml의 penicillin이 함유된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Gibco-BRL, Gaithersburg, MD)에 녹인 후 배양접시에 5×10^4 의 밀도로 배양을 시작한다. 배양액은 이틀에 한번씩 교체하여 주었으며, 배양접시의 세포밀도가 거의 80%가 되었을 때 시약을 처

리하였다.

2. Western blot analysis

단백질의 정량분석을 위하여 세포를 50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 150 mM NaCl, 1% Nonidet P-40, 0.1% SDS 가 함유된 세포 용해용액에 단백질 분해효소 억제제 [10 μ g/ml leupeptin, 10 μ g/ml pepstatin A, 10 μ g/ml aprotinin, 1 mM 4-(2-aminoethyl) benzensulfonyl fluoride]와 인산 분해효소 억제제 (1 mM NaF, 1 mM Na_3VO_4)를 첨가하여 세포 단백질을 추출하였다. 추출한 단백질은 SDS-polyacrylamide gel에 전기영동하여 단백질을 크기 별로 분리한 후 nitrocellulose 막으로 이동시켰다. COX-2, pp38, pERK과 actin 항체는 구입하여 사용하였다 (Santa Cruz, CA).

3. RT-PCR

배양된 연골세포에 paclitaxel (1 μ M)을 처리한 후 모든 RNA는 Trizol (Invitrogen, Gronongen, Netherland)을 이용하여 추출하였다. 추출한 RNA는 Maxim RT-PCR premix kit (Intron Biotechnology)을 이용하여 COX-2 cDNA 합성과 증폭을 위하여 RT-PCR을 수행하였다. Primer는 5'-GAC CCC ATG CAG TAC ATG CG-3' (sense)와 5'-AGC CGC CAT TGA TGG TCT CC-3' (antisense)를 사용하여 45°C annealing 온도에서 30 cycle 증폭하여 2% agarose gel에서 확인하였다.

4. Immunofluorescence staining

연골세포에서 paclitaxel에 의한 COX-2의 발현과 분포를 관찰하기 위하여 immunofluorescence을 수행하였다. 배양된 연골세포는 3.5% paraformaldehyde로 10분 동안 상온에서 고정시켰으며, 0.1% Triton X-100을 이용하여 세포막 투과성을 높여주었다. 고정된 세포는 COX-2 antibody (Santa Cruz, CA)를 사용하여 염색하였으며, 형광현미경으로 관찰하였다.

5. PGE₂ assay

세포내 염증성 cytokine들로 유발된 COX-2에 의한 PGE₂의 농도 변화를 assay kit (Assay design, USA)를 사용하여 enzyme-linked immunoabsorbent assay (ELISA) 방법으로 제조사의 방법에 따라 정량하였다. 96 well plate에 세포를 분주하여 24시간 배양한 후 paclitaxel 1 μ M을 여러 시간 (0~6시간) 동안 처리하였다. 시료의 PGE₂와 첨가된 PGE₂-peroxidase conjugate와의 경쟁반응으로 흡광도 변화

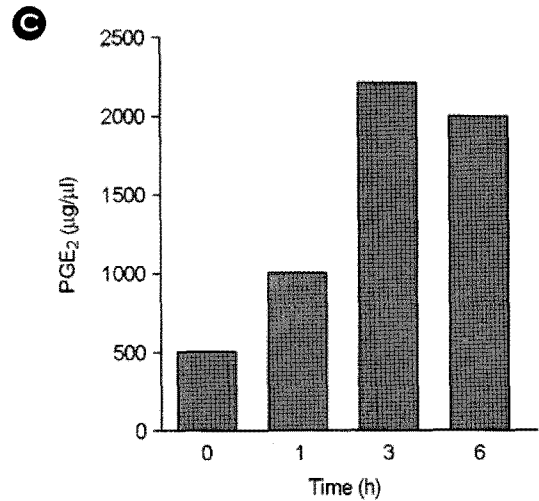
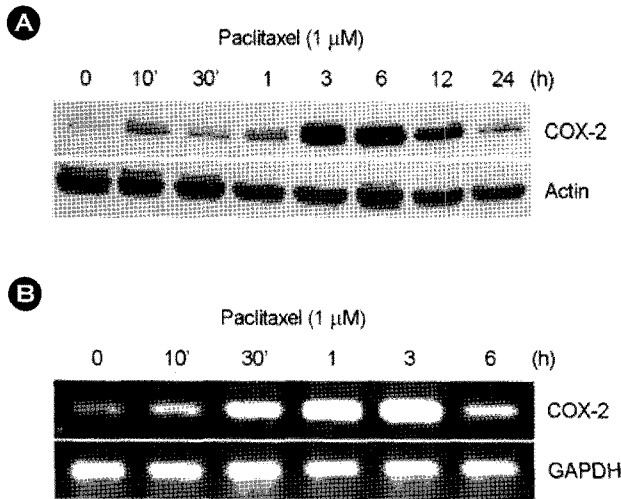


Fig. 1. Paclitaxel stimulates COX-2 expression. Chondrocytes were untreated or treated with 1 μ M paclitaxel for specified time periods (A, left panel) and RT-PCR (B). Level of cellular and secreted PGE₂ was determined by using a PGE₂ assay kit (C). The data represent the results of a typical experiment conducted at least four times with similar results and C represents the average values with standard deviation.

와 농도와의 관계를 나타내는 표준 검량선을 이용하여 각 세포배양액에 함유된 PGE₂의 함량을 계산하였다.

6. Statistics

본 실험의 결과는 여러 차례의 실험 중 평균적인 결과를 사용하였다.

결 과

1. Paclitaxel은 토끼 관절 연골세포에서 COX-2의 발현과 PGE₂의 생성을 유도한다

Paclitaxel을 토끼 관절 연골세포에 처리하여 tubulin의 중합 안정화가 연골세포에서 COX-2 발현에 미치는 영향을 알아보았다. Paclitaxel 1 μ M을 각 시간 별로 24시간 동안 처리하여 COX-2의 발현 정도를 Western blot과 RT-PCR로 확인하였다. COX-2의 발현은 paclitaxel 처리 후 3시간에 최고로 발현이 증가하였으며, 이후 감소하는 양상을 보여 주고 있다 (Fig. 1A). Paclitaxel에 의한 COX-2의 발현은 전사 수준에서도 같은 양상을 보여주었다 (Fig. 1B). 위의 결과를 연골세포 수준에서 확인하고자 연골세포에 1 μ M paclitaxel을 처리한 후 COX-2 항체를 사용하여 면역형광염색을 하여 형광현미경으로 관찰한 결과 paclitaxel을 처리한 세포군에서 COX-2의 발현이 대조군보다 현저히 증가되어짐을 확인할 수 있었다 (Fig. 2). 위의 결과들을 종합해 볼 때, paclitaxel을 처리할 경우 tubulin 중합 안정화는 토끼 관절 연골세포에서 COX-2

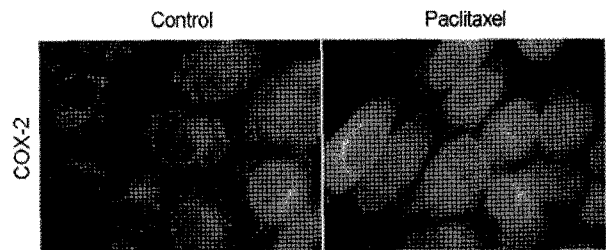


Fig. 2. Paclitaxel causes COX-2 expression of articular chondrocyte. Cartilage explants were untreated (control, left panel) or treated with 1 μ M paclitaxel (right panel) for 24 h. Localization and expression of COX-2 was determined (original magnification; \times 1,000). The data represent the results of a typical experiment conducted at least four times with similar results.

발현을 유도하는 것을 알 수 있었다.

2. Paclitaxel에 의한 연골세포의 분화 유도는 ERK-1/2와 p38 kinase가 조절한다

위의 연구결과를 토대로 연골세포에서 COX-2 발현 유도에 관여하는 세포내 신호전달 기전을 알아보려고 하였다. 본 연구자의 이전 연구결과에서 산화질소 유도에 의한 MAP kinase의 두 subtypes인 ERK-1/2와 p38 kinase 활성이 연골세포의 염증반응을 조절한다는 결과 (Kim et al., 2002)와 paclitaxel 처리에 의해 ERK-1/2와 p38 kinase의 활성이 유도된다는 결과를 기초로 하여 조사하였다 (Im et al., 2009). Paclitaxel 처리에 의한 연골세포의 COX-2 발현조절에 관여하는지를 알아 보기 위하여 ERK-1/2 상위신호전달의 저해제인 PD98095 (PD)와

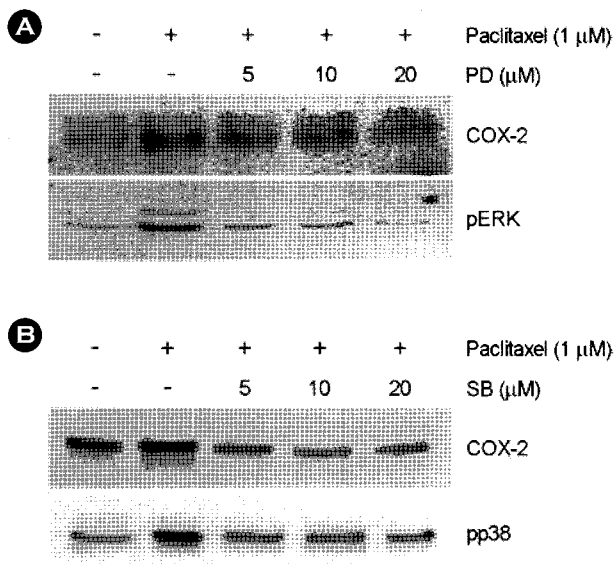


Fig. 3. Paclitaxel-induced COX-2 expression is dependent on activation of MAP kinase. Chondrocytes were treated with paclitaxel 1 μ M in the absence or presence of indicated concentrations of PD98059 (PD, **A**) or SB203580 (SB, **B**). Immunoblots were probed with antibodies to phosphorylated forms of ERK-1/2 and p38. The data represent the results of a typical experiment conducted at least four times with similar results.

p38 kinase의 저해제인 SB203580 (SB)을 각각 1시간 전처리 후 paclitaxel을 처리하여 COX-2의 발현양상을 알아보았다. Paclitaxel을 처리한 연골세포에 ERK-1/2의 활성을 저해하였을 경우, 저해제 농도 의존적으로 COX-2의 발현이 감소하는 것을 확인할 수 있었으며 (Fig. 3A), 이와 마찬가지로 p38 kinase 활성을 저해하였을 경우 저해제 농도 의존적으로 COX-2의 발현이 감소하는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 3B). 그러나, MAP kinase의 subfamily 중 하나인 c-Jun N-terminal kinase (JNK)를 억제하였을 때는 COX-2의 발현에 영향을 미치지 못하는 것을 확인할 수 있었다 (*data not shown*).

이는 paclitaxel을 통한 tubulin 중합 안정화에 의한 연골세포에서의 COX-2 발현 유도는 ERK-1/2 kinase와 p38 kinase 경로를 통하여 염증반응이 촉진되는 것으로 보여진다. 즉, paclitaxel에 의한 연골세포의 염증반응은 두 MAP kinases의 상호작용에 의해 조절되는 것으로 보여진다.

고 찰

Actin 세포골격 단백질과 세포질 미세소관은 세포내 신호 전달에 중요한 역할을 담당한다고 알려져 있다

(Jordan and Wilson, 1998). 최근 인간 유방표피 세포주에서 미세소관과 actin 세포골격 단백질의 중합을 유도하는 시약들이 COX-2의 유전자 발현과 PG₂ 합성을 유도한다는 것을 보고하였다 (Subbaramaiah et al., 2000). 미세소관의 중합을 저해하는 시약인 paclitaxel, colchicines, nocodazole, vinblastine, vincristine, 17- β -estradiol, 2-methoxyestradiol이 주요 MAP Kinase인, p38 kinase, JNK, ERK kinase의 활성을 유도한다고 알려져 있으며 (Lee et al., 1998; Wang et al., 1998; Schmid-Alliana et al., 1998), COX-2의 발현은 주요 MAP kinases의 활성에 따라 영향을 받는다고 보고되었다 (Subbaramaiah et al., 1998; Xie et al., 1995; Xie et al., 1996; Guan et al., 1998; Matsuura et al., 1999).

이전 연구에서 산화질소에 의한 관절 연골세포의 분화와 COX-2의 발현 유도는 ERK-1/2와 p38 kinase에 의해 상반되게 조절된다는 것을 보고하였다 (Kim et al., 2002). Actin 세포골격 단백질의 중합 형성을 저해하기 위해 cytochalasin D를 처리하였을 때, PI3-kinase, AKT, MAP kinase, PKC- α 와 PKC- ζ 와 같은 세포신호 전달과정을 조절하여 산화질소에 의한 연골세포의 탈분화와 세포 자가 사멸을 억제하며 COX-2의 발현을 저해하는 것으로 보이나, JAS에 의한 actin 세포골격의 재구성은 오히려 연골세포의 탈분화와 COX-2의 발현을 유도하는 것으로 나타났다 (Kim et al., 2003). 위의 연구결과를 토대로 하여, 세포골격 단백질의 변형에 의한 연골세포의 염증반응에 관여하는 조절 기작에 대해 더 알아보기 위해 미세소관인 tubulin의 중합 상태를 안정화시키는 paclitaxel을 연골세포에 처리하였다.

본 연구에서는 paclitaxel을 통한 tubulin의 중합 안정화에 의한 연골세포의 염증반응 유도가 MAP kinase 신호전달계를 통해 이루어지는지를 확인하고, paclitaxel이 염증매개 물질인 COX-2와 PGE₂을 자극하여 생산되는 것을 알았다. 그러나 MAP kinase의 subfamily인 JNK는 paclitaxel이 유도하는 COX-2 발현에 영향을 주지 못하였다 (*data not shown*).

우리는 Paclitaxel에 의해 유도된 연골세포의 COX-2의 발현 유도는 주요 MAP kinases subtypes인 ERK-1/2와 p38 kinase의 상호조절에 의해 이루어진다는 것을 알아냈다. 위의 연구결과들을 종합해 볼 때, tubulin의 중합 안정화는 세포골격 단백질에 영향을 주며 결국 연골세포의 형태에 영향을 주어 연골세포의 염증반응을 조절하는 것으로 생각된다. 최근, 주요 염증 전사적 조절인자인 Nuclear factor kappa B (NF- κ B)가 관절연골세포에서 COX-2의 발

현과 PGE₂의 생성을 조절하는 것을 알았다. 그러므로, MAP kinase의 신호전달경로를 통한 paclitaxel의 COX-2의 발현 유도가 NF- κ B의 활성을 경유하여 이루어지는가에 대한 연구가 수행되어야 할 것이다.

Acknowledgements

This work was supported by Korea Research Foundation Grant funded by the Korean Government (KRF-2009-0071662).

REFERENCES

- Anderson GD, Hauser SD, McGarity KL, Bremer ME, Isakson PC, Gregory SA. J. Selective inhibition of cyclooxygenase (COX)-2 reverses inflammation and expression of COX-2 and interleukin 6 in rat adjuvant arthritis. *Clin Invest.* 1996. 97: 2672-2679.
- Andreopoulou E, Muggia F. Pharmacodynamics of tubulin and tubulin-binding agents: extending their potential beyond taxanes. *Clin Breast Cancer* 2008. 2: 54-60.
- Arnal I, Wade RH. How does taxol stabilize microtubules? *Curr Biol.* 1995. 5: 900-908.
- Brahn E, Tang C, Banquerigo ML. Regression of collagen-induced arthritis with taxol, a microtubule stabilizer. *Arthritis Rheum.* 1994. 37: 839-845.
- Crofford LJ, Wilder RL, Ristimaki AP, Sano H, Remmers EF, Epps HR, Hla T. Cyclooxygenase-1 and -2 expression in rheumatoid synovial tissues. Effects of interleukin-1 beta, phorbol ester, and corticosteroids. *J Clin Invest.* 1994. 93: 1095-1101.
- Dannenberg AJ, Zakim D. Chemoprevention of colorectal cancer through inhibition of cyclooxygenase-2. *Semin Oncol.* 1999. 26: 499-504.
- Fischer SM, Lo H-H, Gordon GB, Seibert K, Kelloff G, Lubet RA, Conti CC. Chemopreventive activity of celecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor, and indomethacin against ultraviolet light-induced skin carcinogenesis. *Mol Carcinog.* 1999. 25: 231-240.
- Gallagher BM Jr. Microtubule-stabilizing natural products as promising cancer therapeutics. *Curr Med Chem.* 2007. 14: 2959-2967.
- Guan Z, Buckman SY, Pentland AP, Templeton DJ, Morrison AR. Induction of cyclooxygenase-2 by the activated MEKK1 --> SEK1/MKK4 --> p38 mitogen-activated protein kinase pathway. *J Biol Chem.* 1998. 273: 12901-12908.
- Horwitz SB. Mechanism of action of taxol. *Trends Pharmacol Sci.* 1992. 13: 134-136.
- Im JH, Kim SJ. Paclitaxel suppress dedifferentiation via mitogen-activated protein kinase pathway in rabbit articular chondrocyte. *Korean J Biomed Lab Sci.* 2009. 15: 67-72.
- Jordan MA, Wilson L. Microtubules and actin filaments: dynamic targets for cancer chemotherapy. *Curr Opin Cell Biol.* 1998. 10: 123-130.
- Kawamori T, Rao CV, Seibert K, Reddy BS. Chemopreventive activity of celecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor, against colon carcinogenesis. *Cancer Res.* 1998. 58: 409-412.
- Kim SJ, Hwang SG, Kim IC, Chun JS. Actin cytoskeletal architecture regulates nitric oxide-induced apoptosis, dedifferentiation, and cyclooxygenase-2 expression in articular chondrocytes via mitogen-activated protein kinase and protein kinase C pathways. *J Biol Chem.* 2003. 278: 42448-42456.
- Kim SJ, Ju JW, Oh CD, Yoon YM, Song WK, Kim JH, Yoo YJ, Bang OS, Kang SS, Chun JS. ERK-1/2 and p38 kinase oppositely regulate nitric oxide-induced apoptosis of chondrocytes in association with p53, caspase-3, and differentiation status. *J Biol Chem.* 2002. 277: 1332-1339.
- Lee LF, Li G, Templeton DJ, Ting JP. Paclitaxel (Taxol)-induced gene expression and cell death are both mediated by the activation of c-Jun NH2-terminal kinase (JNK/SAPK). *J Biol Chem.* 1998. 273: 28253-28260.
- Lipsky PE, Isakson PC. Outcome of specific COX-2 inhibition in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 1997. 24: 9-14.
- Min SY, Hwang SY, Jung YO, Jeong J, Park SH, Cho CS, Kim HY, Kim WU. Increase of cyclooxygenase-2 expression by interleukin 15 in rheumatoid synoviocytes. *J Rheumatol.* 2004. 31: 875-883.
- Matsuura H, Sakaue M, Subbaramaiah K, Kamitani H, Eling TE, Dannenberg AJ, Tanabe T, Inoue H, Arata J, Jetten AM. Regulation of cyclooxygenase-2 by interferon gamma and transforming growth factor alpha in normal human epidermal keratinocytes and squamous carcinoma cells. Role of mitogen-activated protein kinases. *J Biol Chem.* 1999. 274: 29138-29148.
- Ristimaki A, Honkanen N, Jankala H, Sipponen P, Harkonen M. expression of cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma. *Cancer Res.* 1997. 57: 1276-1280.
- Karmakar S, Banik NL, Ray SK. Combination of all-trans retinoic acid and paclitaxel-induced differentiation and apoptosis in human glioblastoma U87MG xenografts in nude mice. *Cancer* 2008. 112: 596-607.
- Schmid-Alliana A, Menou L, Manie S, Schmid-Antomarchi H,

- Millet M-A, Giuriato S, Ferrua B, Rossi B. Microtubule integrity regulates src-like and extracellular signal-regulated kinase activities in human pro-monocytic cells. Importance for interleukin-1 production. *J Biol Chem.* 1998. 273: 3394-3400.
- Singh P, Rathinasamy K, Mohan R, Panda D. Microtubule assembly dynamics: an attractive target for anticancer drugs. *IUBMB Life* 2008. 60: 368-375.
- Subbaramaiah K, Hart JC, Norton L, Dannenberg AJ. Microtubule-interfering agents stimulate the transcription of cyclooxygenase-2. Evidence for involvement of ERK1/2 AND p38 mitogen-activated protein kinase pathways. *J Biol Chem.* 2000. 275: 14838-14845.
- Subbaramaiah K, Chung W J, Dannenberg AJ. Ceramide regulates the transcription of cyclooxygenase-2. Evidence for involvement of extracellular signal-regulated kinase/c-Jun N-terminal kinase and p38 mitogen-activated protein kinase pathways. *J Biol Chem.* 1998. 273: 32943-32949.
- Subbaramaiah K, Telang N, Ramonetti JT, Araki R, DeVito B, Weksler BB, Dannenberg AJ. The effect of exogenous prostaglandin administration on tumor size and yield in *min-/+* mice. *Cancer Res.* 1996. 56: 4424-4429.
- Ulivi V, Giannoni P, Gentili C, Cancedda R, Descalzi F. p38/NF-kB-dependent expression of COX-2 during differentiation and inflammatory response of chondrocytes. *J Cell Biochem.* 2008. 104: 1393-1406.
- Wang T-H, Wang H-S, Ichijo H, Giannakakou P, Foster JS, Fojo T, Wimalasena J. Microtubule-interfering agents activate c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase through both Ras and apoptosis signal-regulating kinase pathways. *J Biol Chem.* 1998. 273: 4928-4936.
- Xie W, Herschman HR. v-src induces prostaglandin synthase 2 gene expression by activation of the c-Jun N-terminal kinase and the c-Jun transcription factor. *J Biol Chem.* 1995. 270: 27622-27628.
- Xie W, Herschman HR. Transcriptional regulation of prostaglandin synthase 2 gene expression by platelet-derived growth factor and serum. *J Biol Chem.* 1996. 271: 31742-31748.
-