

尼古丁及尼古丁乙酰胆碱受体 在肺癌发生发展过程中的作用

郭丽丽 综述 吴志浩 周清华 审校

【中图分类号】R734.2

Roles of Nicotine and Nicotinic Acetylcholine Receptors (nAChR) in Carcinogenesis and Development of Lung Cancer

Lili GUO, Zhihao WU, Qinghua ZHOU

Tianjin Key Laboratory of Lung Cancer Metastasis and Tumor Microenvironment, Tianjin Lung Cancer Institute,
Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Corresponding author: Zhihao WU, E-mail: zwu2ster@gmail.com;

Qinghua ZHOU, E-mail: zhouqh1016@yahoo.com.cn

This study was supported by the grant from National Natural Science Foundation of China (to Zhihao WU)(No. 30973384).

肺癌是目前世界上最常见的癌症之一，约占所有癌症病例的15%，而吸烟是目前公认的引起肺癌的主要危险因素之一，在发展中国家，约80%的肺癌病例与吸烟有关^[1]。肺癌的预后总体上仍然不是很乐观，男性的5年生存率为6%-14%，女性为7%-18%^[2]。在香烟烟雾约4,000多种化学物质中，已有60多种被确定为致癌物，它们大多通过与DNA相互作用，导致DNA加合物的形成，从而引起细胞中遗传物质或基因的改变。尼古丁是烟草的主要成分之一，其作用主要是导致吸烟者的成瘾性。

尼古丁对中枢神经系统的作用主要是通过尼古丁乙酰胆碱受体（nicotinic acetylcholine receptors, nAChR）实现的。除了中枢神经系统的神经元，全身许多细胞如淋巴细胞、巨噬细胞、树突细胞、脂肪细胞、角质细胞、内皮细胞及肠道和肺的上皮细胞均表达nAChR。尼古丁及其受体nAChR在肺癌的发生发展中具有重要作用，包括调控细胞增殖、细胞凋亡、新生血管的形成及肿瘤的侵袭等^[3]。因此，本文将对尼古丁在肺癌及其演进过程中所扮演的角色作一综述。

1 尼古丁及其受体nAChR

尼古丁的多种功能特性是通过其与各种类型nAChR的相互作用而形成的。nAChR是由各种不同亚单位组成的同源及异源性五聚体构成（ $\alpha 1-10, \beta 1-4$ ）的^[4,5]。尼古丁是一种非选择性nAChR激动剂，nAChR五聚体中的 $\beta 2$ 或 $\beta 4$ 亚单位与其对尼古丁的亲合力高低有关。尼古丁可激活多种nAChR亚型，作用于交感和副交感神经系统，引起一系列反应。nAChR的上调或下调可对心血管系统、呼吸系统、内分泌系统及中枢神经系统产生生理学效应^[6-8]。其中研究最多的是香烟的成瘾性效应^[9,10]。同其它成瘾性药物一样，尼古丁可使大脑中阿肯柏氏核多巴胺水平增高，进而加强药物的利用或消耗^[11]。

2 肺组织中的nAChR

1997年发现正常人支气管上皮细胞（bronchial epithelial cells, BEC）表达 $\alpha 3-$ 、 $\alpha 4-$ 、 $\alpha 5-$ 及 $\alpha 7-$ 四种nAChR亚单位，这4个亚单位形成钙离子调控通道从而调节细胞的粘附和运动^[12]。之后又发现在BEC中尼古丁的结合位点具有饱和性。RT-PCR、原位杂交等技术证实了BEC中 $\alpha 7$ -nAChR的存在^[13]。值得关注的是，West等^[14]发现起源于大气道的BEC和小气道上皮细胞（small airway epithelial

本研究受国家自然科学基金项目（No.30973384）资助

作者单位：300052 天津，天津医科大学总医院，天津市肺癌研究所，天津市肺癌转移与肿瘤微环境重点实验室（通讯作者：吴志浩，E-mail: zwu2ster@gmail.com；周清华，E-mail: zhouqh1016@yahoo.com.cn）

cells, SAEC) 的BEC, 两者的nAChR类型有略微不同。BEC选择性表达 $\alpha 3$ -和 $\alpha 5$ -nAChR亚单位, 而SAEC选择性表达 $\alpha 2$ -和 $\alpha 4$ -亚单位, 两者都表达 $\alpha 7$ -、 $\alpha 10$ -、 $\beta 2$ -和 $\beta 4$ -亚单位。Plummer等^[15]研究表明在正常肺组织细胞和肺癌细胞(包括鳞癌、类癌、腺癌、大细胞癌和小细胞癌)中都广泛表达 $\alpha 7$ -nAChR。由此推断, 肺上皮细胞可能广泛表达 $\alpha 7$ -nAChR, 这也提示它在肺组织生物学中的重要作用。

3 尼古丁及nAChR对正常肺组织的作用

近年来, 随着肺组织细胞中尼古丁乙酰胆碱受体nAChR的发现, 胆碱类药物在肺癌发展过程中的作用得到了更多的研究^[16,17]。吸烟人群中, 血浆尼古丁水平的峰值在白天可达到200 nM左右, 在夜晚入睡时则可降至5 nM-10 nM, 而直接暴露于烟雾的肺气道的尼古丁水平可升至5倍-10倍, 而且峰值和最低值更为明显^[19]。这样高的水平足够激活 $\alpha 4\beta 2$ -nAChR^[18,19], 而且也可能激活 $\alpha 7$ -nAChR^[20]。

粘膜下腺体的上皮细胞中大量表达 $\alpha 7$ -nAChR。吸烟可明显增加nAChR的相对数量, 而这一效应可在10 μ M尼古丁处理的BEC培养液中被复制^[15]。Lam等^[21]最近发现100 nM尼古丁处理BEC细胞72 h后和144 h后, $\alpha 1$ -、 $\alpha 5$ -、 $\alpha 7$ -nAChR的RNA水平在72 h明显增加, 而撤去尼古丁后, 又回到基础水平。为了更深入地探讨这些分子机制, 有研究^[22]采用5 μ M尼古丁分别处理BEC 4 h、8 h、10 h后, 通过微阵列-生物信息学分析尼古丁所诱导的基因表达图谱发现, 在所分析的1,800个基因中, 260个基因明显上调, 17个基因明显下调。

用尼古丁处理兔肺上皮细胞不同时间发现, 细胞内多条通路的活化状况也不同^[23]。其中, 蛋白激酶C (protein kinase C, PKC) 和磷脂酰肌醇3-激酶 (phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K) 在尼古丁处理后可暂时激活。Ras及其下游效应分子细胞外信号调节激酶1/2 (extracellular signal-regulated kinase, ERK1/2) 在长时间暴露于尼古丁后也可激活。尼古丁激活Ras是氨甲蝶林 (methotrexate, MTX) 所介导的 G_i 期检测点受到干扰及活性氧簇产生增加的原因^[23]。这些数据表明持续暴露于尼古丁可干扰 G_i 期检测点, 并且可通过活性氧簇的产生引起DNA损伤。尼古丁激活的多条信号通路中研究最成熟最广泛的是PI3K/Akt信号通路。尼古丁可在几分钟内激活Akt, 在45 min-50 min达到高峰, 且可以维

持数小时。吸烟的肺癌患者体内磷酸化Akt的存在提示尼古丁激活Akt不仅局限在原代培养细胞, 而且存在于肺癌细胞。而一旦被尼古丁激活, Akt就可使多个调控细胞周期和蛋白翻译的下游分子发生磷酸化, 如糖原合成酶-3 (glycogen synthase kinase-3, GSK-3)、真核翻译起始因子4E (eukaryotic translation initiation factor, 4EBP-1) 及核糖体激酶p70^{S6K}^[14]。肺神经内分泌细胞 (pulmonary neuroendocrine cells, PNEC) 是气道上皮细胞中极为特殊的一部分, 它们含有并且可以分泌生物胺, 尤其是5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 和各种多肽^[24,25]。通过分析游离的兔气管中5-HT的释放, 发现PNEC的分泌活性是通过尼古丁受体介导的^[26]。并且尼古丁受体诱导的5-HT的释放同样可存在于体外培养的PNEC细胞中^[27]。Roman等^[28]研究发现, 暴露于尼古丁的小鼠其纤连蛋白mRNA和蛋白的水平均增高。免疫组化的结果也表明尼古丁与肺泡、气道上皮及血管中纤连蛋白蛋白水平的增高有关。以上数据提示尼古丁通过刺激 $\alpha 7$ -nAChR依赖的信号通路诱导成纤维细胞产生纤连蛋白, 从而导致肺细胞基质成分发生改变。尼古丁可能通过此种机制促进气道周围及肺实质的组织重塑, 这也可能是烟草会导致肺功能异常的机制之一。

4 尼古丁作为致癌物

Hecht等^[29]假设尼古丁是经2'-羟基进行代谢的, 它最终生成酮酸和羟基酸作为尿液新陈代谢的产物。虽然这条通路在哺乳动物中未建立起来, 但它仍然具有重要的意义, 因为尼古丁的产物, 2'-羟基,4-(甲氨基)-1-(3-吡啶)-1-丁酮(氨基酮), 可转变为烟草-特异性的肺部强致癌物4-(甲基亚硝胺)-1-(3-吡啶)-1-丁酮。将尼古丁与细胞色素P450 2A6共同孵育可产生氨基酮, 用氨基酮做媒介, 将人肝细胞微粒体与尼古丁共同孵育则可产生酮酸。最近有文献^[30]对与尼古丁结构相似的致癌物亚硝胺4-(甲基亚硝胺)-1-(3-吡啶)-1-丁酮(nitrosamines 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, NNK)和N'-亚硝基去甲基烟碱 (N'-nitrosonornicotine, NNN) 的作用机制做了阐明。NNK对 $\alpha 7$ -nAChR具有高度亲和性, 用NNK或尼古丁处理小细胞肺癌 (small cell lung cancer, SCLC) 或PNEC, 可使 $\alpha 7$ -nAChR的表达增加, 引起钙离子内流, 激活PKC、Raf-1、ERK1/2和c-myc, 导致细胞增殖。NNK或NNN处理支气管肺泡细胞BEP2D后, 细胞增殖潜能增强, 并且可被 α -BTX阻断, 同时, 增殖细胞核

抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 和凋亡抑制蛋白 *Bcl-2* 基因表达成倍增加。NNK 激活 nAChR 可导致转录因子 GATA-3、核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 及信号转导和转录激活因子-1 (signal transducer and activator of transcription, STAT-1) 的激活, 而 NNN 主要激活 GATA-3 和 STAT-1。这些数据均表明 NNK 和 NNN 的功能是通过 nAChR 实现的, 并且 nAChR 拮抗剂有可能成为肿瘤化学预防的药物^[31]。

5 尼古丁及其受体 nAChR 在肺癌中的作用

肺癌从组织学上主要分为: 类癌、SCLC 和非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC)。NSCLC 又分为: 腺癌 (adenocarcinoma, AD)、鳞癌 (squamous cell carcinoma, SQ) 及大细胞癌。腺癌是男女性共发的最常见的组织学类型, 但与男性相比, 女性中腺癌更为常见, 而鳞癌则较少。香烟烟雾与上述几种组织亚型均有关联, 但是吸烟者最容易发展为鳞癌。

SCLC 和 NSCLC 细胞系均存在 $\alpha 7$ -nAChR^[32]。研究^[21]表明, 非吸烟肺癌患者体内 $\alpha 6$ -和 $\beta 3$ -nAChR 的表达水平较吸烟患者高。最近, 全基因组相关性研究 (genome-wide association studies, GWAS) 表明人类染色体 15q24-25 与肺癌的高风险具有显著关系^[33]。通过单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 分析发现, 染色体 15q24-25 区域包含有编码 $\alpha 3$ -、 $\alpha 5$ -及 $\beta 4$ -nAChR 的基因簇 *CHRNA5*、*CHRNA3* 及 *CHRNA5*^[33,34], 并且, $\alpha 5$ - $\alpha 3$ -nAChR 与吸烟相关性肺癌具有特异性, 而与不吸烟性肺癌及其它吸烟相关性癌症如膀胱癌和肾癌无关。此外, 最新的研究^[35]还表明, 除了肺癌, $\alpha 9$ -nAChR 在与吸烟相关的人乳腺癌中也存在过表达, 且尼古丁可通过上调 $\alpha 9$ -nAChR 的表达诱导正常乳腺上皮细胞 MCF-10A 的转化。

目前发现尼古丁在肺癌细胞 (SCLC 和 NSCLC) 中的主要作用为促进肿瘤细胞增殖和抑制药物诱导的细胞凋亡。A549 细胞同其它肺腺癌细胞一样, 存在一个有活性的胆碱能系统, 包括 Ach、胆碱乙酰转移酶 (choline acetyltransferase, ChAT)、积聚有胆碱的膜囊泡、乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AChE) 及 nAChR^[36]。将 A549 细胞接种到免疫缺陷小鼠 NOD/SCID, 发现尼古丁可明显促进肿瘤的生长, 而尾静脉注射一定量的尼古丁 (0.6 mg/kg, >15 d), 则可降低细胞凋亡 (TUNEL 分析)、增加血管的数量 (CD31 阳性细胞百分比) 及增加 Ki67 的表达。Ki67 是肿瘤细胞增殖的标记物, 可反映肿瘤内磷

酸化 AKT 的水平^[37]。以上这些数据均表明尼古丁在肿瘤进展中具有一定的作用。尼古丁在肿瘤发展中的作用不仅与新生血管数量的增加有关, 而且可能参与细胞死亡和增殖的调控。

5.1 细胞增殖方面 有研究^[38]表明, 在仓鼠中单独的尼古丁可能并不会导致肺癌的发生, 而尼古丁伴有缺氧则可以诱发肺癌, 从而提示长期的 nAChR 的活化伴有缺氧损伤可引起肿瘤的发生。在 NSCLC 中, 尼古丁可以靶向表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 的释放, 导致 EGF 结合到其受体 EGFR, 并激活 Ras-Raf-ERK 信号通路, 从而导致细胞增殖^[39,40]。Ras-Raf-ERK 信号通路可被 $\alpha 7$ -nAChR 拮抗剂 α -银环蛇毒素 (α -bungarotoxin, α -BTX) 和 α -环磷酰胺 (α -cobratoxin, α -CTX) 所阻断^[41]。此外, β -arrestin 信号通路也可参与尼古丁诱导的细胞增殖^[42]。 β -arrestin 结合到 $\alpha 7$ -nAChR 可激活 Src 和 Raf 通路, Raf 又结合到 Rb, Rb 的失活最终导致细胞进入 S 期。这一通路可被 α -BTX 及另外一种 $\alpha 7$ -nAChR 拮抗剂 MLA (methyllycaconitine) 阻断。另外, 尼古丁还可激活 PI3K 及哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR), 导致细胞增殖^[43]。

5.2 细胞凋亡方面 尼古丁通过激活 PI3K/Akt 直接使 Bax 磷酸化从而使其凋亡的功能失活^[44,45]。尼古丁还可引起 Akt 下游底物如 GSK-3、p70^{S6K}、4EBP-1 的磷酸化参与细胞凋亡的抑制^[14]。Akt 的激活还可使凋亡抑制蛋白 Survivin 和 XIAP 水平上调, 从而在尼古丁抗凋亡活性中发挥关键作用^[46]。尼古丁通过上调 NF- κ B 发挥其抗凋亡的作用^[47]。

5.3 新生血管形成方面 Heeschen 等^[48]从解剖结构及功能上证实了尼古丁可以诱导血管形成。同时, 他们也证明了尼古丁可加速肿瘤和动脉粥样斑的生长, 并伴有新生血管形成的增加。在老鼠后肢缺血模型中, 尼古丁可促进毛细血管及其附属物的生长, 促进组织的灌注。尼古丁的以上这些效应都是通过 nAChR 介导的, 内皮细胞产生的氮氧化物、前列腺素及血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 都有可能在这些效应中发挥作用。有研究^[49]表明, 尼古丁作为二手烟 (second-hand smoke, SHS) 的主要成分之一, 与血浆中一些血管源性细胞因子如 VEGF 的增加有关, 而 SHS 的血管效应可被内皮细胞的 nAChR 抑制剂所阻断。此外, 有研究^[50]表明, 尼古丁还可通过刺激缺氧诱导因子 (hypoxia inducible factor, HIF-1 α) 的积聚而调控新生血管的形成。

5.4 肿瘤侵袭和转移方面 上皮细胞间质化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 与细胞运动能力及侵袭能力的增加有密切关系, 也是目前肿瘤转移研究的热

点之一。尼古丁可引起上皮细胞的标记物E-钙粘蛋白(E-cadherin)、 β -连环蛋白(β -catenin)及紧密结合蛋白ZO-1的表达下降,同时间质细胞标记物纤连蛋白和波形蛋白(vimentin)的表达增加^[51,52]。此外,尼古丁可通过激活与人肺癌细胞迁移和侵袭有关的PKC诱导 μ -和m-钙激活酶(calpains)的磷酸化,从而激活细胞运动的信号^[53]。在体内,PKC可直接磷酸化 μ -和m-钙激活酶,PKC的过表达可导致 μ -和m-钙激活酶磷酸化的增加。尼古丁还可诱导c-Src的活化,它是PKC的上游激酶。用 α -BTX处理细胞,可阻断尼古丁诱导的钙激活酶的磷酸化并抑制钙激活酶的活性,抑制创伤修复、细胞迁移和侵袭,这表明尼古丁诱导钙激活酶的磷酸化在一定程度上是通过 $\alpha 7$ -nAChR实现的。通过RNA干扰技术靶向沉默PKC的表达可抑制尼古丁诱导的钙激活酶的磷酸化及其活性,抑制细胞的迁移和侵袭,表明PKC是尼古丁介导的细胞运动的必要组成部分。此外,尼古丁还可诱导 μ -和m-钙激活酶从肺癌细胞中分泌到培养基中,这有可能导致细胞外基质(extracellular matrix, ECM)中底物的裂解。以上这些发现揭示了PKC通过钙激活酶的激活,在人肺癌细胞的迁移和侵袭中所扮演的新角色。

6 结语

尽管没有证据表明尼古丁本身可以诱导肺癌,但是众多研究证实尼古丁可以促进体内癌细胞的生长,促进内皮细胞的增殖,其中,尼古丁乙酰胆碱受体nAChR起着重要的介导作用,尼古丁通过激活不同的nAChR亚型发挥其在肺癌中的重要作用。通过抑制nAChR的蛋白水平可明显消除尼古丁及NNK在肿瘤模型中诱导细胞增殖的作用。这些发现将有助于我们更好地研究和理解尼古丁及nAChR在肺癌发生发展中的作用。目前,已有一些nAChR特异性的激动剂及拮抗剂用于多种疾病治疗的临床试验(癌症除外),因此,特异性靶向肿瘤中过表达的nAChR亚型的拮抗剂可能会为今后肿瘤的治疗提供一种新的途径^[54]。

参考文献

- 1 WHO. Cancer Fact Sheet. World Health Organization, 2011.
- 2 Cagle PT, Allen TC, Dacic S, *et al*. Revolution in lung cancer: new challenges for the surgical pathologist. *Arch Pathol Lab Med*, 2011, 135(1): 110-116.
- 3 Schuller HM. Is cancer triggered by altered signalling of nicotinic acetylcholine receptors? *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(3): 195-205.
- 4 Sargent PB. The diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Annu Rev Neurosci*, 1993, 16: 403-443.
- 5 Lukas RJ, Changeux JP, Le Novère N, *et al*. Current status of the nomenclature for nicotinic acetylcholine receptors and their subunits. *Pharmacol Rev*, 1999, 51(2): 397-401.
- 6 Benowitz NL. Basic cardiovascular research and its implications for the medicinal use of nicotine. *J Am Coll Cardiol*, 2003, 41(8): 497-498.
- 7 Czernin J, Waldherr C. Cigarette smoking and coronary blood flow. *Prog Cardiovasc Dis*, 2003, 45(5): 395-404.
- 8 Pickworth WB, Fant RV. Endocrine effects of nicotine administration, tobacco and other drug withdrawal in humans. *Psychoneuroendocrinology*, 1998, 23(2): 131-141.
- 9 Dani JA, De Biasi M. Cellular mechanisms of nicotine addiction. *Pharmacol Biochem Behav*, 2001, 70 (4): 439-446.
- 10 Buisson B, Bertrand D. Nicotine addiction: the possible role of functional upregulation. *Trends Pharmacol Sci*, 2002, 23(3): 130-136.
- 11 Dani JA. Roles of dopamine signaling in nicotine addiction. *Mol Psychiatry*, 2003, 8(3): 255-256.
- 12 Zia S, Ndoye A, Nguyen VT, *et al*. Nicotine enhances expression of the alpha 3, alpha 4, alpha 5, and alpha 7 nicotinic receptors modulating calcium metabolism and regulating adhesion and motility of respiratory epithelial cells. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 1997, 97(3): 243-262.
- 13 Wang Y, Pereira EF, Maus AD, *et al*. Human bronchial epithelial and endothelial cells express alpha7 nicotinic acetylcholine receptors. *Mol Pharmacol*, 2001, 60(6): 1201-1209.
- 14 West KA, Brognard J, Clark AS, *et al*. Rapid Akt activation by nicotine and a tobacco carcinogen modulates the phenotype of normal human airway epithelial cells. *J Clin Invest*, 2003, 111(1): 81-90.
- 15 Plummer HK 3rd, Dhar M, Schuller HM. Expression of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor in human lung cells. *Respir Res*, 2005, 4: 6-29.
- 16 Racké K, Matthies S. The airway cholinergic system: physiology and pharmacology. *Pulm Pharmacol Ther*, 2004, 17(4): 181-198.
- 17 Russo P, Catassi A, Cesario A, *et al*. Development of novel therapeutic strategies for lung cancer: targeting the cholinergic system. *Curr Med Chem*, 2006, 13(29): 3493-3512.
- 18 Olale F, Gerzanich V, Kuryatov A, *et al*. Chronic nicotine exposure differentially affects the function of human alpha3, alpha4, and alpha7 neuronal nicotinic receptor subtypes. *J Pharmacol Exp Ther*, 1997, 283(2): 675-683.
- 19 Buisson B, Bertrand D. Chronic exposure to nicotine upregulates the human (alpha)4(beta)2 nicotinic acetylcholine receptor function. *J Neurosci*, 2001, 21(6): 1819-1829.
- 20 Kawai H, Berg DK. Nicotinic acetylcholine receptors containing alpha 7 subunits on rat cortical neurons do not undergo long-lasting inactivation even when up-regulated by chronic nicotine exposure. *J Neurochem*, 2001, 78(6): 1367-1378.
- 21 Lam DC, Girard L, Ramirez R, *et al*. Expression of nicotinic acetylcholine receptor subunit genes in non-small-cell lung cancer reveals differences between smokers and nonsmokers. *Cancer Res*, 2007, 7(10): 4638-4647.
- 22 Tsai JR, Chong IW, Chen CC, *et al*. Mitogen-activated protein kinase pathway was significantly activated in human bronchial epithelial cells by

- nicotine. *DNA Cell Biology*, 2006, 25(5): 312-322.
- 23 Guo J, Chu M, Abbeyquaye T, *et al.* Persistent nicotine treatment potentiates amplification of the dihydrofolate reductase gene in rat lung epithelial cells as a consequence of Ras activation. *J Biol Chem*, 2005, 280(34): 30422-30431.
- 24 Dey RD, Echt R, Dinerstein RJ. Morphology, histochemistry, and distribution of serotonin-containing cells in tracheal epithelium of adult rabbit. *Anat Rec*, 1981, 199(1): 23-31.
- 25 Scheuermann DW. Morphology and cytochemistry of the endocrine epithelial system in the lung. *Int Rev Cytol*, 1987, 106: 35-88.
- 26 Freitag A, Wessler I, Racke K. Adrenoceptor- and cholinceptor-mediated mechanisms in the regulation of 5-hydroxytryptamine release from isolated tracheae of newborn rabbits. *Br J Pharmacol*, 1996, 119(1): 91-98.
- 27 Jull BA, Plummer HK 3rd, Schuller HM. Nicotinic receptor-mediated activation by the tobacco-specific nitrosamine NNK of a Raf-1/MAP kinase pathway, resulting in phosphorylation of c-myc in human small cell lung carcinoma cells and pulmonary neuroendocrine cells. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2001, 127(12): 707-717.
- 28 Roman J, Ritzenthaler JD, Gil-Acosta A, *et al.* Nicotine and fibronectin expression in lung fibroblasts: implications for tobacco-related lung tissue remodeling. *FASEB J*, 2004, 18(12): 1436-1438.
- 29 Hecht SS, Hochalter JB, Villalta PW, *et al.* 2'-Hydroxylation of nicotine by cytochrome P450 2A6 and human liver microsomes: formation of a lung carcinogen precursor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(23): 12493-12497.
- 30 Schuller HM. Nitrosamines as nicotinic receptor ligands. *Life Sci*, 2007, 80(24-25): 2274-2280.
- 31 Arredondo J, Chernyavsky AI, Grando SA. The nicotinic receptor antagonists abolish pathobiologic effects of tobacco-derived nitrosamines on BEP2D cells. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2006, 132(10): 653-663.
- 32 Maneckjee R, Minna JD. Opioid and nicotine receptors affect growth regulation of human lung cancer cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87(9): 3294-3298.
- 33 Spitz MR, Amos CI, Dong Q, *et al.* The CHRNAS-A3 region on chromosome 15q24-25.1 is a risk factor both for nicotine dependence and for lung cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2008, 100(21): 1552-1556.
- 34 Impropio MRD, Scofield MD, Tapper AR, *et al.* From smoking to lung cancer: the CHRNAS/A3/B4 connection. *Oncogene*, 2010, 29(35): 4874-4884.
- 35 Lee CH, Huang CS, Chen CS, *et al.* Overexpression and activation of the alpha9-nicotinic receptor during tumorigenesis in human breast epithelial cells. *J Natl Cancer Inst*, 2010, 102(17): 1322-1335.
- 36 Grozio A, Catassi A, Cavalieri Z, *et al.* Nicotine, lung and cancer. *Anticancer Agents Med Chem*, 2007, 7(4): 461-466.
- 37 Matta SG, Balfour DJ, Benowitz NL, *et al.* Guidelines on nicotine dose selection for in vivo research. *Psychopharmacology (Berlin)*, 2007, 190(3): 269-319.
- 38 Schuller HM, McGavin MD, Orloff M, *et al.* Simultaneous exposure to nicotine and hyperoxia causes tumors in hamsters. *Lab Invest*, 1995, 73(3): 448-456.
- 39 Dasgupta P, Chellappan SP. Nicotine-mediated cell proliferation and angiogenesis: new twists to an old story. *Cell Cycle*, 2006, 5(20): 2324-2328.
- 40 Carlisle DL, Liu X, Hopkins TM, *et al.* Nicotine activates cell-signaling pathways through muscle-type and neuronal nicotinic acetylcholine receptors in non-small cell lung cancer cells. *Pulm Pharmacol Ther*, 2007, 20(6): 629-641.
- 41 Paleari L, Catassi A, Ciarlo M, *et al.* Role of alpha7-nicotinic acetylcholine receptor in human non-small cell lung cancer proliferation. *Cell Prolif*, 2008, 41(6): 936-959.
- 42 Dasgupta P, Rastogi S, Pillai S, *et al.* Nicotine induces cell proliferation by beta-arrestin-mediated activation of Src and Rb-Raf-1 pathways. *J Clin Invest*, 2006, 116(8): 2208-2217.
- 43 Zheng Y, Ritzenthaler JD, Roman J, *et al.* Nicotine stimulates human lung cancer cell growth by inducing fibronectin expression. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 37(6): 681-690.
- 44 Xin M, Deng X. Nicotine inactivation of the proapoptotic function of Bax through phosphorylation. *J Biol Chem*, 2005, 280(11): 10781-10789.
- 45 Jin Z, Gao F, Flagg T, *et al.* Tobacco-specific nitrosamine 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone promotes functional cooperation of Bcl2 and c-Myc through phosphorylation in regulating cell survival and proliferation. *J Biol Chem*, 2004, 279(38): 40209-40219.
- 46 Dasgupta P, Kinkade R, Joshi B, *et al.* Nicotine inhibits apoptosis induced by chemotherapeutic drugs by up-regulating XIAP and survivin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(16): 6332-6337.
- 47 Zhang T, Lu H, Shang X, *et al.* Nicotine prevents the apoptosis induced by menadione in human lung cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 342(3): 928-934.
- 48 Heeschen C, Chang E, Aicher A, *et al.* Endothelial progenitor cells participate in nicotine-mediated angiogenesis. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 48(12): 2553-2560.
- 49 Zhu BQ, Heeschen C, Sievers RE, *et al.* Second hand smoke stimulates tumor angiogenesis and growth. *Cancer Cell*, 2003, 4(3): 191-196.
- 50 Zhang Q, Tang X, Zhang ZF, *et al.* Nicotine induces hypoxia-inducible factor-1alpha expression in human lung cancer cells via nicotinic acetylcholine receptor-mediated signaling pathways. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(16): 4686-4694.
- 51 Dasgupta P, Rizwani W, Pillai S, *et al.* Nicotine induces cell proliferation, invasion and epithelial-mesenchymal transition in a variety of human cancer cell lines. *Int J Cancer*, 2009, 124(1): 36-45.
- 52 Davis R, Rizwani W, Banerjee S, *et al.* Nicotine promotes tumor growth and metastasis in mouse models of lung cancer. *PLoS One*, 2009, 4(10): e7524.
- 53 Xu L, Deng X. Suppression of cancer cell migration and invasion by protein phosphatase 2A through dephosphorylation of mu- and m-calpains. *J Biol Chem*, 2006, 281(46): 35567-35575.
- 54 Wu CH, Lee CH, Ho YS. Nicotinic acetylcholine receptor-based blockade: applications of molecular targets for cancer therapy. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(11): 3533-3541.

(收稿: 2011-07-02 修回: 2011-07-18)

(本文编辑 南娟)