文章编号:1000-5404(2005)19-1997-02

经验交流

NF-κB、COX-2 及 iNOS 在胃癌及胃不典型增生中的表达及其意义

Expression of NF-κB, COX-2, iNOS in gastric atypical hyperplasia and gastric cancer

刘 莹[1],朱祖安[2],费素娟[2] ([1]徐州医学院病理学教研室,[2]徐州医学院附属医院消化内科,徐州 221002)

核因子 κB (nuclear factor-kappa B, NF-κB) 是普遍存在于细胞质中以 p50/ p65 异二聚体为存在形式的一种快反应转录因子,在炎症、免疫反应等病理过程中具有重要作用,近来发现它与细胞凋亡、肿瘤形成、细胞周期调控以及细胞分化等有关[1]。环氧化酶 2 (cyclooxygenase 2, COX-2)、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)为诱导型酶,在机体炎症反应中表达增强,研究表明二者持续表达与肿瘤的发生、浸润、转移有关[2~5],作为炎症相关基因受 NF-κB 调控,抑制 NF-κB 可以抑制 COX-2、iNOS 基因启动子的活性。本实验旨在探讨 NF-κB、COX-2、iNOS 在胃不典型增生、胃癌中的表达情况及它们在胃癌的发生、发展中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

所有标本取自徐州医学院附属医院 2001 - 2004 年胃镜活检及手术切除标本。84 例胃癌中男性 61 例,女性 23 例,年龄 31 ~ 77 岁,平均 57.5 岁,有淋巴结转移 56 例。不典型增生标本中,轻度不典型增生 33 例,重度不典型增生 21 例。所有患者无长期糖皮质激素及非甾体抗炎药服用史,胃癌患者术前均未经过化疗和放疗。COX-2 单克隆抗体、iNOS 单克隆抗体、NF-κBp65 单克隆抗体等均为 Santa cruz 公司产品,购自北京中杉试剂有限公司。

1.2 检测方法

采用免疫组化 Power Vision™ 两步法进行染色(按试剂盒说明书进行,抗原修复均采用高压热修复)。用 PBS 取代一抗作为空白对照,已知阳性组织片作为阳性对照。光镜观察免疫组化染色切片的显色反应,其中:① NF-κB 阳性:细胞质或核膜染色为棕黄色或深棕黄色为阳性细胞,其计数 > 10%,判定为阳性。②COX-2 和 iNOS 阳性:细胞质染色为棕黄色或深棕黄色为阳性细胞,高倍镜计数 10 个视野,其计数 > 10%,判定为阳性。

1.3 统计学分析

应用 Stata 8.0 统计软件,两组率的比较采用 χ^2 检验,COX-2,iNOS 与 NF-κB 相关性采用 Goodman-Kruskal 检验。

2 结果

2.1 NF-κB、COX-2、iNOS 蛋白的表达

NF-κB、COX-2、iNOS 在胃轻度、重度不典型增生及胃癌组织阳性表达率逐渐升高(表 1)。胃癌与轻度不典型增生组之间 NF-κB、COX-2、iNOS 的表达差异均显著(χ^2 值分别为 11.797、12.740、17.715,$P < 0.05$),COX-2 在胃癌与重度不典型增生组之间差异显著($\chi^2 = 4.038$,$P < 0.05$)(图 1 ~ 4)。

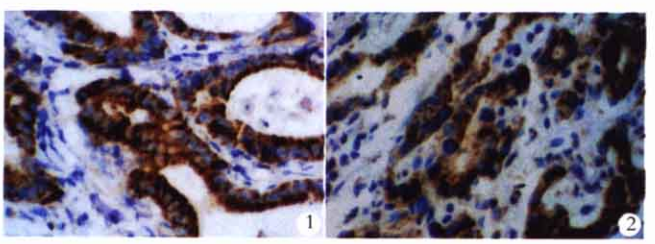


图 1 NF-κB 在胃癌组织中的表达 (Power Vision™ ×400)
图 2 COX-2 在胃癌组织中的表达 (Power Vision™ ×400)

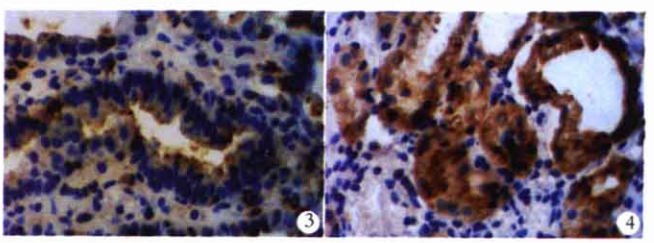


图 3 NF-κB 在胃不典型增生中的表达 (Power Vision™ ×400)
图 4 COX-2 在胃不典型增生中的表达 (Power Vision™ ×400)

基金项目:江苏省教育厅自然科学研究计划资助项目(01KJB320011)
Supported by the Natural Science Foundation of the Education Department of Jiangsu Province (01KJB320011)

作者简介:刘 莹(1973 -),女,江苏省徐州市人,硕士,讲师,主要从事肿瘤病理方面的研究。电话:(0516)5748428,E-mail:ly13382661608@163.com

收稿日期:2004-12-23;**修回日期**:2005-03-12

表1 NF-κB、COX-2、iNOS 在不典型增生及胃癌中的表达 [n(%)]

组织学类型	n	NF-κB 表达		COX-2 表达		iNOS 表达	
		+	−	+	−	+	−
轻度不典型增生	33	8(24.24)	25(75.76)	10(30.30)	23(69.70)	12(36.36)	21(63.64)
重度不典型增生	21	8(38.10)	13(61.90)	9(42.86)	12(57.14)	12(57.14)	9(42.86)
胃癌	84	50(59.52)	34(40.48)	56(66.67)	(33.33)	65(77.38)	19(22.62)

2.2 NF-κB、COX-2、iNOS 蛋白表达与胃癌大小、浸润及转移的关系

大于5 cm 的胃癌组织中 NF-κB、COX-2、iNOS 蛋白表达阳性率高于小于 5 cm 的胃癌组织，具有显著性差异($P<0.05$)；有淋巴结转移病例中 COX-2、iNOS 蛋白表达阳性率高于无淋巴结转移病例，具有显著性差异($P<0.05$)；COX-2 蛋白表达阳性率与浸润深度正相关($P<0.05$)(表2)。COX-2、iNOS、NF-κB 在胃癌患者中阳性表达率与年龄、性别及分化程度无关。

表2 COX-2、iNOS、NF-κB 表达与临床病理因素的相关性 [n(%)]

临床病理因素	n	NF-κB (+)	P value	COX-2 (+)	P value	iNOS (+)	P value
肿瘤大小(cm)							
>5	43	32(74.42)	0.004	34 (79.07)	0.014	38 (88.37)	0.014
<5	41	18(43.90)		22 (53.66)		27 (65.85)	
淋巴结转移							
阳性	56	37 (66.07)	0.084	43(76.79)	0.005	49 (87.50)	0.002
阴性	28	13 (46.43)		13(46.43)		16 (57.14)	
浸润程度							
T1	12	7 (58.33)	0.529	4 (33.33)	0.048	7(58.33)	0.184
T2	24	14(53.85)		16 (66.67)		18 (75.00)	
T3	41	23 (56.10)		30 (73.17)		33 (80.49)	
T4	7	6(85.71)		6(85.71)		7 (100.00)	
分化程度							
高分化	7	4(57.14)	0.906	5(71.43)	0.109	5(71.43)	0.925
中分化	27	17(62.96)		22(81.48)		21(77.78)	
低分化	50	29(58.00)		29(58.00)		39(78.00)	

2.3 NF-κB、COX-2、iNOS 蛋白在胃癌组织表达的关系

胃癌组织中 COX-2、iNOS 蛋白表达与 NF-κB 蛋白表达之间具有相关性(r 值分别为0.475 7、0.540 3，$P<0.05$)(表3)。

表3 NF-κB、COX-2 及 iNOS 在胃癌中表达的相关性[n(%)]

NF-κB	n	COX-2 表达		iNOS 表达	
		+	−	+	−
+	50	38(76.00)	12(24.00)	43(86.00)	7(14.00)
−	34	18 (52.94)	16(47.06)	22(64.71)	12(35.29)

3 讨论

本实验显示 COX-2、iNOS、NF-κB 蛋白在轻度不典型增生即有表达并且在重度不典型增生与胃癌组织中表达率逐渐增高，COX-2、iNOS 与胃癌组织的生长、转移，浸润有关，提示三者在胃癌的发生、发展中具有一定作用。

COX-2 基因启动子上具有 NF-κB -5′(−455 ~ −428 kb)，NF-κB-3′(−232 ~ −205 kb)两个 NF-κB 结合位点，iNOS 基因 24.7 kb 上游 59-侧翼区也具有 NF-κB 应答元件，作为上游调节因子 NF-kB 可以通过作用于这些结合位点，而调节 COX-2 、iNOS 基因转录、蛋白表达[6]，而本实验显示胃癌组织内 COX-2、iNOS 蛋白表达与 NF-κB 蛋白表达之间具有相关性，所以我们认为因为 NF-κB 与慢性胃炎尤其是 HP 相关胃炎密切相关[7]，在炎症情况下，NF-κB 激活并转移至细胞核内，与 COX-2、iNOS 基因上的启动子结合从而可以引起促 COX-2 和 iNOS 蛋白表达增强，这对胃粘膜修复具有积极意义，然而 NF-κB 持续表达则可能导致 COX-2 和 iNOS 过度表达，引起胃粘膜细胞过度增生，成为胃癌形成的早期事件并在胃癌的浸润和转移中起到重要作用。

关键词：胃癌；胃不典型增生；核转录因子-κB；环氧合酶-2；诱导型一氧化氮合酶；免疫组化

中图法分类号：R730.21；R735.2 **文献标识码**：B

参考文献：

[1] Sosic D, Richardson J A, Yu K, *et al*. Twist regulates cytokine gene expression through a negative feedback loop that represses NF-kappaB activity[J]. Cell, 2003, 112(2): 169 - 180.

[2] Chang S H, Liu C H, Conway R, *et al*. Role of prostaglandin E2-dependent angiogenic switch in cyclooxygenase 2-induced breast cancer progression[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(2): 591 - 596.

[3] Kakiuchi Y, Tsuji S, Tsujii M, *et al*. Cyclooxygenase-2 activity altered the cell-surface carbohydrate antigens on colon cancer cells and enhanced liver metastasis[J]. Cancer Res, 2002, 62 (5): 1567 - 1572.

[4] Phoa N, Epe B. Influence of nittic oxide on the generation and repair of oxidative DNA damage in mammalian cells[J]. Carcinogenesis, 2002, 23(3): 469 - 475.

[5] Zech B, Kohl R, von Knethen A, *et al*. Nitric oxide donors inhibit formation of the Apaf-1/caspase-9 apoptosome and activation of caspases[J]. Biochem J, 2003, 371(Pt 3): 1055 - 1064.

[6] Tak P P, Firestein G S. NF-kappaB: a key role in inflammatory diseases[J]. J Clin Invest, 2001, 107(1): 7 - 11.

[7] Konturek P C, Kania J, Konturek J W, *et al*. H. pylori infection, atrophic gastritis, cytokines, gastrin, COX-2, PPAR gamma and impaired apoptosis in gastric carcinogenesis[J]. Med Sci Monit, 2003, 9(7): SR53 - SR66.

(编辑 薛国文)