维普资讯 http://www.cqvip.com

局解手术学杂志 2004年第13卷第3期
J Regional Anat & Operative Surg, 2004, Vol.13, No.3

环氧化酶-2在鼻咽癌中的表达及其临床意义

蒋代华，郭德玉，刘友生，刘丽梅
（第三军医大学附属西南医院病理学研究所，重庆 400038）

［摘 要］ **目的** 探讨环氧化酶-2(COX-2)在鼻咽癌中的表达情况及其与淋巴结转移的关系和可能机制。**方法** 应用免疫组织化学方法(SABC法)，检测62例鼻咽癌病人(其中颈部淋巴结转移者18例)中COX-2、VEGF的表达和微血管密度(MVD)。**结果** COX-2在鼻咽癌中有高度表达，其表达阳性率为77.42%，且与鼻咽癌中VEGF表达、微血管密度和颈淋巴结转移密切相关($P<0.01$)。**结论** COX-2的高度表达在鼻咽癌的发生、发展及淋巴结转移中起重要作用，且这种作用可能通过上调VEGF的表达来实现的。

［关键词］鼻咽癌；环氧化酶-2；血管内皮生长因子
［中图分类号］R739.63 ［文献标识码］A ［文章编号］1672-5042(2004)03-0152-03

Expression of cyclooxygenase-2 in nasopharyngeal carcinoma and its significance

JIANG Dai-hua, GUO De-yu, LIU You-sheng, LIU Li-mei
(Institute of Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship of cyclooxygenase-2 (COX-2) expression with lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma and the possible mechanisms. **Methods** Levels of COX-2, vascular endothelial growth factor (VEGF), and microvessel density (MVD) in 62 patients with nasopharyngeal carcinoma (18 patients with lymph node metastasis) were measured by immunohistochemistry (SABC method). **Results** The positive rate of COX-2 in nasopharyngeal carcinoma was 77.42%. COX-2 expression was closely associated with VEGF expression, MVD, and lymph node metastasis of nasopharyngeal carcinoma ($P<0.01$). **Conclusion** The overexpression of COX-2 may play a crucial role in the carcinogenesis and development of nasopharyngeal carcinoma and lymph node metastasis in patients with nasopharyngeal carcinoma by means of up-regulating the expression of VEGF.

Keywords: nasopharyngeal carcinoma; cyclooxygenase-2; VEGF

环氧化酶(COX)是花生四烯酸转化为前列腺素的限速酶，有COX-1和COX-2两个同功酶，其中COX-1在多种组织中均有表达，与组织自身稳定性有关；COX-2在正常生理情况下无明显表达，但当细胞受到相应刺激后便开始合成表达。COX-2除了在炎症、肿瘤细胞生长、细胞凋亡、细胞运动和肿瘤血管生成等有密切关系[1]，并在结直肠癌、胃癌、肺癌、食道癌、前列腺癌等组织中检测到COX-2的高表达。但有关鼻咽癌组织中COX-2表达情况的报道甚少，现将研究结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

标本取自我院2001年1月至2003年10月的鼻咽癌标本，共62例，其中男性51例，女性11例，年龄23～75岁，平均年龄45.5岁。标本经病理学证实，均为鳞状细胞癌，其中Ⅰ级6例，Ⅱ级33例，Ⅲ级23例，伴颈淋巴结转移者18例。所有患者送病理前均未放疗和化疗。以鼻咽正常粘膜10例作为正常对照组。

1.2 方法

采用常规SABC法进行免疫组化染色，兔抗人COX-2单克隆抗体(武汉博士德生物工程有限公司)，鼠抗人血管内皮生长因子(VEGF)单克隆抗体、兔抗人Ⅷ因子(FⅧ)相关抗原(Ⅷ-RAg)多克隆抗体(北京中山生物技术有限公司)。切片常规脱蜡水化，3%双氧水37 ℃下孵育15 min，微波修复抗原，滴加10%正常山羊血清，37 ℃孵育15 min，倾去血清，滴加一抗，37 ℃孵育30 min后在4 ℃冰箱过夜。滴加生物素标记的二抗，37 ℃孵育30 min，滴加辣根过氧化酶标记的链霉亲和素，37 ℃孵育30 min，DAB显色，苏木素复染。

1.3 结果判定标准

COX-2及VEGF蛋白表达主要在肿瘤细胞的胞浆，FⅧ因子蛋白表达主要在血管内皮细胞胞质。FⅧ因子以血管内皮细胞胞质内出现棕黄色颗粒为阳性判断标准，参考Weidner等[2]判断标准并加以改进，选取肿瘤微血管数量(FⅧ阳性)最丰富区域，在200倍视野范围计算5个视野的微血管数目，取平均值

［作者简介］蒋代华(1966-)，男，湖北省潜江市人，主治医师，硕士研究生，主要从事耳鼻喉临床及听力学基础方面研究。电话：13110202838

［收稿日期］2004-03-20 ［修回日期］2004-04-26

维普资讯 http://www.cqvip.com

作为微血管密度(MVD);COX-2和VEGF阳性结果判定参照文献[3]进行肿瘤细胞染色阳性记分。在高倍镜下计数1 000个肿瘤细胞,避开肿瘤边缘及坏死区域,根据阳性瘤细胞数目所占百分比得出COX-2或VEGF标记指数(Labeling index, LI),即COX-2或VEGF LI=阳性瘤细胞/1 000个瘤细胞×100%。分为以下四级记分:Ⅰ:0分,<10%;Ⅱ:1分,10~25%;Ⅲ2分,25~50%;Ⅳ:3分,50%以上。染色强度按瘤细胞着色的深浅记分:1分,弱;2分,中等;3分,强。将两个分值相加即得出该标本的免疫组化的阳性分度:0~1分为阴性,记为-;2~4分为弱阳性,记为+;5分以上为阳性,记为++。采用统计软件SPSS10.0处理,分别采用卡方检验和t检验。

2 结果

2.1 COX-2在鼻咽癌组织中的表达

62例鼻咽癌组织中,COX-2阳性表达48例(77.42%),而10例正常鼻咽粘膜组织中COX-2无阳性表达。两组之间的差异性具有统计学意义($P<0.01$),见图1。

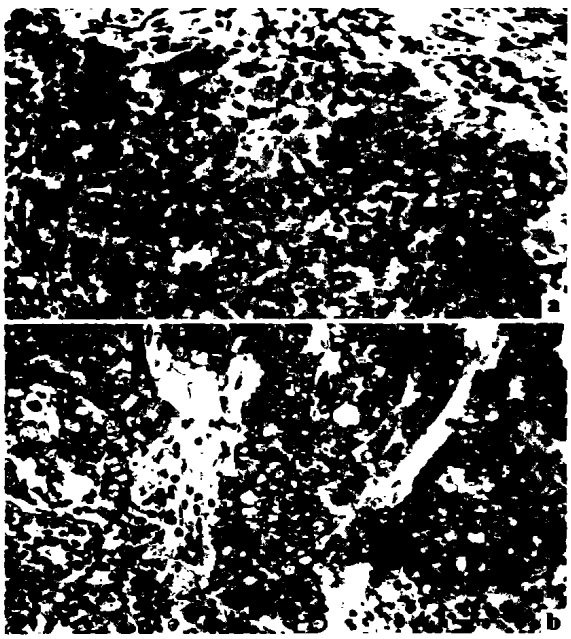


图1 鼻咽癌组织中COX-2(a)和VEGF(b)的阳性表达(SABC法 ×200)

2.2 COX-2表达与VEGF的表达和MVD的关系

在62例鼻咽癌中,VEGF阳性表达33例(52.23%);10例正常鼻咽粘膜组织中VEGF阳性表达为1例(10%)。两组之间的差异性具有统计学意义($P<0.01$),见图2。在62例鼻咽癌中,COX-2与VEGF表达共同呈阳性者30例,共同呈阴性者11例;COX-2表达呈阳性而VEGF表达呈阴性者18例,COX-2表达呈阴性而VEGF表达呈阳性者3例。表达一致的符合率为66.13%(41/62)。经统计学处理,COX-2和VEGF的表达具有明显相关关系($P<0.05$),见表1。COX-2阳性组中MVD值明显高于COX-2阴性组(分别为58.33±16.2和32.56±13.1,$P<0.05$),说明COX-2与MVD之间也具有明显相关性。

表1 COX-2的表达与VEGF表达及MVD之间的关系

		COX-2			合计
		++	+	-	
VEGF	++	6	4	1	11
	+	1	19	3	23
	-	18	11	29	
合计		7	41	15	

2.3 COX-2和VEGF表达与淋巴结转移的关系

在淋巴结转移组中,COX-2和VEGF的阳性表达率明显高于无转移组($P<0.05$),而COX-2和VEGF的表达与病人的性别、年龄以及肿瘤的分化程度和生长部位的关系在统计学上没有显著意义,见表2。

表2 COX-2和VEGF表达与临床病理及淋巴结转移之间的关系

因素	例数	COX-2表达			VEGF表达		
		-	+	++	-	+	++
癌组织	62	14	41	7	29	22	11
有淋巴结转移组	18	1	12	5*	4	7	7*
无淋巴结转移组	44	13	29	2	25	15	4
正常粘膜	10	10	0	0	9	1	0
分化程度							
Ⅰ级	6	2	3	1	3	2	1
Ⅱ级	33	7	22	4	14	10	6
Ⅲ级	23	5	16	2	12	10	4
性别							
男	49	11	32	6	23	17	9
女	13	3	9	1	6	5	2
年龄							
≤50	36	8	24	4	17	13	6
>50	26	6	17	3	12	9	5
原发部位							
咽隐窝	31	7	20	4	15	11	5
鼻咽顶	25	6	17	2	11	9	5
其他部位	6	1	4	1	3	2	1

注:与无淋巴结转移组比较,* $P<0.05$

3 讨论

鼻咽癌发病率在头颈部肿瘤中居于首位,由于鼻咽癌部位隐蔽,不易早期发现,出现症状就诊时已处于

维普资讯 http://www.cqvip.com

中晚期。鼻咽癌转移以淋巴道转移为主,其发生机制尚不十分清楚。研究表明,结直肠癌、前列腺癌、食管癌等许多肿瘤中均有 COX-2 的高表达,且 COX-2 的高表达与肿瘤的发生、发展及转移具有密切的关系。Lanza-Jacoby 等[4]报道 COX-2 选择性抑制剂塞来昔布能抑制乳腺癌的生长。Lin 等[5]证实 COX-2 选择性抑制剂可抑制肿瘤的生长,并且能降低 VEGF mRNA 的表达水平及微血管密度。本文结果表明,COX-2 在正常鼻咽粘膜中不表达,而在鼻咽癌组织中的表达增高,COX-2 的高表达与淋巴结转移、鼻咽部鳞状细胞癌的发生、发展及过程密切相关。

COX-2 是前列腺素合成过程中的诱导型酶,能够促进创伤愈合过程中的血管形成,并且前列腺素 PGE2 在溃疡的血管生成中有重要作用。因此,COX-2 是一种重要的血管形成调节因子。肿瘤的生长、浸润和转移是血管生成依赖性的。肿瘤直径大于 1~2 mm 时,为保证其快速增殖,必须有血管生成,而肿瘤的血管形成过程是由多种细胞因子促进完成的,其中血管内皮细胞生长因子(VEGF)是目前被认为诱导血管形成的最重要的因子之一。它是一种由各种肿瘤细胞及某些正常细胞产生的可溶性蛋白,它的受体(flt)选择性地表达于血管内皮细胞上,用抗 VEGF 多克隆抗体可以降低微血管密度并且抑制实验性肿瘤的生长[6]。Drorak 等[7]的研究表明,VEGF 蛋白不仅在肿瘤细胞中表达而且在血管内皮细胞中表达。本实验的研究结果显示:VEGF 的表达量在正常鼻咽粘膜中低于癌组织中,并且在癌组织的表达集中于肿瘤浸润的前缘,说明 VEGF 的表达量与鼻咽鳞状细胞癌的浸润和淋巴结转移相关。有淋巴结转移组 VEGF 的表达量明显高于无淋巴转移组,可能是 VEGF 使 VEGFR2 表达增高,从而上调淋巴管内皮细胞对 VEGF-C 表达的反应性,导致淋巴管增生,反之,VEGF-C 的表达增高通过 VEGFR2 也增加了血管内皮细胞对 VEGF 的反应性[8]。丰富的血管和淋巴管不仅增加了肿瘤细胞进入循环中的机率,而且还可以侵入临近组织与毛细血管伴行或通过淋巴静脉连接进入淋巴管从而促进淋巴结转移[9]。Masferrer 等[10]发现 COX-2 的表达可显著诱导 VEGF 的产生,这种诱导作用可被 COX-2 特异性抑制剂 NS-398 阻断。本文认为,COX-2 在鼻咽癌变过程中的表达与血管内皮细胞生长因子(VEGF)的高表达及微血管密度(MVD)有相关性。COX-2 在鼻咽鳞状细胞癌的发生发展及转移过程中发挥着重要作用,并且这种作用可能通过 COX-2 诱导 VEGF 的产生而发挥,其作用机制有待于进一步研究。

总之,本文认为环氧化酶-2 和血管内皮生长因子在鼻咽癌组织中的高表达和肿瘤的血管生成密切相关,并且在肿瘤的发生、发展以及转移中起重要作用。COX-2 和 VEGF 有可能作为判断鼻咽癌生物学行为、转移潜能及预后的指标之一,也为临床治疗和预防鼻咽癌提供新的靶点。

[参考文献]

[1] Dannenberg AJ, Altorki NK, Boyle JO, et al. Cyclo-oxygenase 2: a pharmacological target for the prevention of cancer [J]. Lancet Oncol, 2001,2(9):544-551.

[2] Weidner N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer[J]. Am J Pathol, 1995,147(1):9-19.

[3] Ow K, Delprado W, Fisher R, et al. Relationship between expression of the KAI1 metastasis suppressor and other markers of advanced bladder cancer[J]. J Pathol, 2000,191(1):39-47.

[4] Lanza-Jacoby S, Miller S, Flynn J, et al . The cyclooxygenase-2 inhibitor, celecoxib, prevents the development of mammary tumors in HER-2/neu mice [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2003,12(12):1486-1491.

[5] Liu XH, Kirschenbaum A, Yao S, et al. Upregulation of vascular endothelial growth factor by cobalt chloride-simulated hypoxia is mediated by persistent induction of cyclooxygenase-2 in a metastatic human prostate cancer cell line[J]. Clin Exp Metastasis, 1999, 17(8): 687-694.

[6] de Vries C, Escobedo JA, Ueno H, et al. The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor[J]. Science 1992,255(5047):989-991.

[7] Kim KJ, Li B, Winer J, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo[J]. Nature, 1993,362(6423):841-844.

[8] Tille JC, Wang X, Lipson KE, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor-2 signaling mediates VEGF-C (deltaN-deltaC)-and VEGF-A-induced angiogenesis *in vitro*[J]. Exp Cell Res, 2003, 285(2):286-298.

[9] Kraft A, Weindel K, Ochs A, et al. Vascular endothelial growth factor in the sera and effusions of patients with malignant and non-malignant disease[J]. Cancer, 1999,85(1):178-187.

[10] Masferrer JL, Leahy KM, Koki AT, et al. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors [J]. Cancer Res,2000,60(5):1306-1311.

(编辑:邱全光)