# 食管癌 COX-2 和 VEGF 的表达及其与临床病理特征的关系

奚 豪,朱延波,蒋虹伟,潘武红 (同济大学附属第十人民医院病理科,上海 200072)

[摘 要] **目的** 探讨 COX-2、VEGF 在食管癌组织中的表达及其与食管癌临床病理特征的相关性及两者关系。**方法** 免疫组化方法检测 68 例手术切除的食管癌组织中 COX-2、VEGF 的表达,分析两者表达与食管癌临床病理特征的相关性及两者关系。**结果** COX2 和 VEGF 在正常食管组织中未见表达或很少表达,而在食管癌组织中 COX-2 阳性率 79.4%;VEGF-C 阳性率 72.1%。食管癌的分化程度越低,COX-2 的表达越高,两者有明显相关性,$P<0.05$;但 VEGF 的表达与分化程度无明显相关性,$P>0.05$。COX-2、VEGF 的表达均随浸润深度增加而逐渐增加,两者均呈正相关,$P<0.05$;两者在无淋巴结转移的食管癌组织中的表达均明显低于有淋巴结转移及远处转移者($P<0.01$),两者呈正相关。同样,COX-2、VEGF 的表达与 TNM 分期相关。**结论** COX-2、VEGF 在食管癌中呈高表达状态,并且这种高表达与食管癌的病理特征包括分化程度、浸润深度、淋巴结转移及 TNM 分期相关,COX-2 与 VEGF 的表达与食管癌的浸润深度、淋巴结转移及 TNM 分期的关系呈正相关。

[关键词] 环氧化酶-2;血管内皮生长因子;食管癌;病理特征

[中图分类号] R730.3;R735.1 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2011)02-0157-03

## Expressions of COX-2 and VEGF in esophagus carcinoma and their relationships with clinical pathologic characteristics

XI Hao, ZHU Yan-bo, JIANG Hong-wei, PAN Wu-hong (Department of Pathology, 10th Affiliated Hospital of Tongji University, Shanghai 200072, China)

**Abstract: Objective** To explore the expressions of COX-2 and VEGF in esophagus carcinoma and their relationships with clinical pathologic characteristics. **Methods** The expressions of COX-2 and VEGF in 68 patients who underwent surgical resection of esophagus carcinoma were detected by immunohistochemistry and their relationships with clinical pathologic characters were analyzed. **Results** The expressions of COX-2 and VEGF in normal esophagus tissue were few, however, the positive rates of COX-2 and VEGF in esophagus carcinoma were 79.4% and 72.1%. The differentiate degree was correlated with the expression of COX-2, the lower the differentiate degree, the higher the expression of COX-2, $P<0.05$; but the differentiate degree was not correlated with the expression of VEGF, $P>0.05$. The expressions of COX-2 and VEGF were positively correlated with the infiltration depth and lymph node metastasis ($P<0.05$), their expressions were obviously lower in esophagus carcinoma without lymph node metastasis than in esophagus carcinoma with lymph node metastasis ($P<0.01$). Moreover, the expressions of COX-2 and VEGF were correlated with TNM grade. **Conclusion** The expressions of COX-2 and VEGF in esophagus carcinoma were higher than those in normal tissue. The expressions of COX-2 and VEGF were positively correlated with the infiltration depth, metastasis and TNM grade.

**Keywords:** cyclooxygenase-2; VEGF; esophagus carcinoma; pathologic characters

食管癌是我国常见的恶性肿瘤之一,其发病率和死亡率居第四位,手术治疗仍是食管癌治疗的主要手段,但是仍有部分复发[1]。对食管癌发生、发展相关机制的研究意义重大。环氧化酶-2(cyclooxygenase-2,COX-2)是诱生型花生四烯酸的环氧酶代谢途径中的限速酶,可催化花生四烯酸转化为前列腺素。Liu 等[2]采用 RT-PCR 方法检测了食管癌组织中 COX-2 mRNA 的表达,结果表明食管癌中 COX-2 mRNA 的表达明显高于癌旁组织。COX-2 不仅在食管癌组织中高表达,而且其表达水平与病理过程、转移、复发及预后明显相关[3]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是肿瘤组织中最重要的促血管生长因子,它参与肿瘤细胞的生长、分化、转移、增殖等过程。为了探讨 COX-2 与 VEGF 在食管癌中的表达情况及其与食管癌病理特征的关系,为食管癌的诊治和预防提供参考,本研究采用免疫组化法检测了 68 例食管癌组织中两者的表达情况,并与食管癌的病理特征进行相关性分析。

[作者简介] 奚 豪(1975-),男,上海市人,主治医生,本科,主要从事肿瘤病理方面的研究。电话:(021)66307655

[收稿日期] 2011-01-04 [修回日期] 2011-01-26

## 1 材料与方法

### 1.1 组织标本来源

随机选取 68 例我院病理科保存的 2005 年 6 月至 2010 年 1 月手术切除的食管癌组织石蜡包埋标本。各标本病例资料齐全,标本保存良好。另经胃镜下取正常食管粘膜 16 例,进行石蜡包埋,作为对照组。68 例食管癌患者中男 42 例,女 26 例,年龄 42 ~ 79 岁,平均(64.3 ± 11.7)岁。其中鳞癌 60 例,腺癌 8 例;未分化癌 2 例,低分化 19 例,中分化 22 例,高分化 25 例;无区域淋巴结转移 29 例,有区域淋巴结转移 32 例,有远处转移 7 例;病变侵及粘膜层 2 例,侵及粘膜下层 4 例,侵及肌层 18 例,侵及浆膜层 44 例;TNM Ⅰ期 26 例,Ⅱ期 33 例,Ⅲ期 9 例。16 例正常食管粘膜组织中,男性 10 例,女性 6 例,年龄 40 ~ 80 岁,平均年龄(64.5 ± 11.9)岁。两组在性别构成及年龄上无显著差异,具有可比性。

### 1.2 方法

用全自动石蜡切片机对病理石蜡块切片制成 4 μm 厚的病理组织切片,之后按照免疫组化染色试剂盒说明书进行免疫组化染色,具体步骤如下:脱蜡、水化;PBS 洗 2 ~ 3 次各 5 min;3% $H_2O_2$(80% 甲醇)滴加在切片上,室温静置 10 min;PBS 洗 2 ~ 3 次各 5 min;抗原修复:切片浸于 pH 6.0 的枸橼酸缓液中,给予解冻挡微波处理 12 min 进行抗原修复;PBS 洗 2 ~ 3 次各 5 min;滴加正常山羊血清封闭液,室温 20 min。甩去多余液体;滴加 1∶100 比例稀释的Ⅰ抗 50 μl,37 ℃条件下放置 1 h;4 ℃过夜后需在 37 ℃复温 45 min;PBS 洗 3 次各 5 min;滴加 1∶5 000 比例稀释的Ⅱ抗 40 ~ 50 μl,37 ℃条件下放置 1 h;PBS 洗 3 次各 5 min;DAB 显色 5 ~ 10 min,在显微镜下掌握染色程度;PBS 或自来水冲洗 10 min;苏木精复染 2 min,盐酸酒精分化;自来水冲洗 10 ~ 15 min;脱水、透明、封片、镜检。以等量的 PBS 代替Ⅰ抗作为阴性对照。

### 1.3 结果判断

根据细胞着色的情况对每张切片进行计分,参照文献[4]方法,首先将切片色强度分为:0 分阴性,1 分弱阳性(染色强度为淡黄或浅棕色),2 分强阳性(染色强度为黄或棕色);然后,根据染色强度部分所占比例计为为 0 分:0% ~ 4%。1 分:5% ~ 24%。2 分:25% ~ 49%。3 分:50% ~ 74%。4 分:75% ~ 100%。两者乘积后各个部分相加作为每一张切片的最后计分。结果判定由两位资深病理学医师单独进行,取两者平均值。

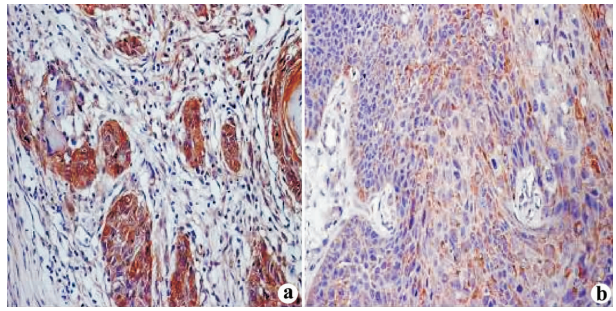
### 1.4 统计学方法

所有数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 12.0 统计软件进行统计,组间比较采用方差分析,单因素相关分析采用 Spearman's 相关分析;COX-2 和 VEGF 之间的相关分析采用 Pearson 相关分析,$P < 0.05$ 为有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 COX-2 和 VEGF 在食管癌组织中的表达

COX2 在正常食管组织中未见表达或很少表达,而在食管癌组织中 COX-2 和 VEGF-C 阳性产物为棕黄色颗粒,主要表达于食管鳞状细胞胞浆中(图 1)。68 例食管癌组织中 54 例 COX-2 阳性表达,阳性率 79.4%;49 例 VEGF-C 阳性表达,阳性率 72.1%。




a:COX-2 在食管癌组织中表达;b:VEGF 在食管癌组织中表达

**图 1 COX-2、VEGF 在食管癌组织中表达**

### 2.2 COX-2、VEGF 的表达与食管癌病理特征的关系

分别对 COX-2、VEGF 蛋白的表达与病理特征包括分化程度、浸润深度、转移程度及 TNM 分期进行单因素相关性分析,结果发现食管癌的分化程度越低,COX-2 的表达越高,两者有明显相关性,$P < 0.05$;但 VEGF 的表达与分化程度无明显相关性,$P > 0.05$。COX-2、VEGF 的表达均随浸润深度增加而逐渐增加,两者均呈正相关,$P < 0.05$;两者在无淋巴结转移的食管癌组织中的表达均明显低于有淋巴结转移及远处转移者($P < 0.01$),两者呈正相关。同样,COX-2、VEGF 的表达与 TNM 分期相关。

### 2.3 COX-2 与 VEGF 的相关性检验

COX-2 与 VEGF 在食管癌中的表达与肿瘤浸润深度($r = 0.492$, $P < 0.01$)、淋巴结转移($r = 0.865$, $P < 0.01$)及 TNM 分期($r = 0.543$, $P < 0.01$)呈正相关,而两者的表达与肿瘤的分化程度无相关性($P = 0.097$)。

## 3 讨论

在正常状态下,COX-2 在各种因子如细胞因子、内毒素、高脂饮食、致癌剂、癌基因、病毒癌基因产物以及紫外线等刺激下 COX-2 表达增加,并且产生大量的代谢产物,进一步促进肿瘤的发生和发展。国内外研究表明,COX-2 在食管癌细胞或组织中的表达高于癌旁组织或正常食管组织。王邦茂等[5]采用 RT-PCR、免疫组织化学和放射免疫分析等方法研究食管腺癌和食管鳞癌病人内窥镜活检组织中 COX-2 蛋白及其

mRNA 的表达,结果发现食管腺癌和食管鳞癌中 COX-2 蛋白及其 mRNA 均呈高表达。Tanaka 等[6] 通过荧光定量 RT-PCR 方法发现 VEGF-C 在食管癌细胞株、食管癌组织中的表达均高于正常食管粘膜细胞及癌旁组织。卢培等[7] 研究表明 VEGF-C 及 VEGFR-3 在食管癌组织中的表达明显高于癌旁组织。封巍等[8] 通过 Western-blot 方法检测发现 VEGF 蛋白在食管癌细胞及食管癌组织中的表达明显增高。王丽华等[9] 研究发现 66 例食管癌组织中 COX-2 阳性率 69.70%;VEGF-C 阳性率 56.06%,在 10 例癌旁组织中,偶可见食管粘膜上皮细胞浆内有极弱 COX-2 和 VEGF-C 表达。本研究发现,食管癌组织中 COX-2、VEGF 的表达均明显高于正常食管粘膜组织,这与国内外众多报道相一致。

COX-2、VEGF 在食管癌组织中的高表达与食管癌的病理特征相关。王丽华等[9] 的研究表明 COX-2 可能参与 VEGF 淋巴管生成通路,它们的表达可能在食管癌淋巴道转移中发挥重要作用。于钟等[4] 研究表明 COX-2 在食管癌中的表达高于正常食管粘膜。肿瘤浸润越深、鳞癌分化程度越低,COX-2 的表达越强;COX-2 的表达与食管癌患者的年龄、性别、肿瘤生长部位、肿瘤长度、有无区域淋巴结转移、有无远处转移均无关。有关 COX-2 的表达与食管癌分化程度、淋巴结转移的关系,国内有相互矛盾的报道,陈玉芳等[10] 研究发现 COX-2 在食管癌高、中分化中的阳性表达明显高于低分化的癌组织,在无淋巴结转移中阳性表达亦显著高于淋巴结转移组。我们研究发现,食管癌的分化程度越低,COX-2 的表达越高,两者有明显相关性,$P<0.05$,COX-2 的表达均随浸润深度增加而逐渐增加,两者均呈正相关,$P<0.05$。并且,COX-2 的表达在无淋巴结转移的食管癌组织中的表达均明显低于有淋巴结转移及远处转移者($P<0.01$),因此,我们的研究表明 COX-2 的表达与食管癌的淋巴结转移相关。同样,COX-2、VEGF 的表达与 TNM 分期相关。这可能与病变的取材及例数有关,仍需广泛深入研究。

另外,我们还发现,COX-2 与 VEGF 在食管癌中的表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移及临床分期呈正相关,而两者的表达与肿瘤的分化程度无相关性。这说明,COX-2 可能通过某种机制上调了 VEGF 的表达,从而促进肿瘤的血供,加速其发展[11]。Byeon 等[12] 用免疫组化技术研究了 34 例 ESCC 组织,发现 COX-2 的表达水平与 VEGF-C 的表达水平呈正相关,而 VEGF-C 的表达水平与原发肿瘤的深度、肿瘤的进展和淋巴结的转移呈正相关。Su 等[13] 在肺腺癌的研究中发现,COX-2 可上调 VEGF-C 的表达,进而促进淋巴管生成和淋巴结转移。

总之,COX-2、VEGF 在食管癌中呈高表达状态,并且这种高表达与食管癌的病理特征包括分化程度、浸润深度、淋巴结转移及 TNM 分期相关,COX-2 与 VEGF 的表达与食管癌的浸润深度、淋巴结转移及 TNM 分期的关系呈正相关。

## [参考文献]


[1] 毛友生,赫 捷,程贵余. 我国食管癌外科治疗的现状与未来对策[J]. 中华肿瘤杂志,2010,32(6):3760 - 3766.

[2] Liu X, Li P, Zhang ST, et al. COX-2 mRNA expression in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and effect by NSAID[J]. Dis Esophagus, 2007, 21(1): 9 - 14.

[3] 周 超,马洪升. 环氧化酶-2 与食管癌[J]. 世界华人消化杂志,2005,13(6):766 - 768.

[4] 于 钟,袁宇红,詹 俊,等. 食管癌中 COX-2 表达与其临床病理特征及预后的关系[J]. 中国病理生理杂志,2006,22(11):2212 - 2217.

[5] 王邦茂,刘心娟,刘文天,等. COX-2 在食管癌中的表达及其意义[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2006,15(1):62 - 64.

[6] Tanaka T, Ishiguro H, Kuwabara Y, et al. Vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) in esophageal cancer correlates with lymph node metastasis and poor patient prognosis[J]. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 2010, 29(1): 83.

[7] 卢 培,陆慧琦,韩焕兴,等. 实时荧光定量 PCR 测定食管癌 VEGFC 和 VEGFR-3 基因表达[J]. 检验医学,2009,24(5):355 - 360.

[8] 封 巍,祝淑钗,王玉祥. 食管癌中血管内皮生长因子的表达及其对预后的意义初探[J]. 中华放射肿瘤学杂志,2007,16(1):69 - 70.

[9] 王丽华,高志安,聂洪材,等. COX-2 和 VEGF-C 在食管鳞癌淋巴结转移中的作用[J]. 辽宁医学院学报,2007,28(3):41 - 43.

[10] 陈玉芳,万美珍,史永娟. 食管癌中 Cox-2 与 p53 表达及相关意义[J]. 现代肿瘤医学,2007,15(3):360 - 362.

[11] 郭光金. VEGF 促进自体移植脾组织血管再生影响的实验研究[J]. 局解手术学杂志,2009,18(6):443.

[12] Byeon JS, Jung HY, Lee YJ, et al. Clinicopathological significance of vascular endothelial growth factor-C and cyclooxygenase-2 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Gastroenterol Hepatol, 2004, 19(6): 648 - 654.

[13] Su JL, Shih JY, Yen ML, et a1. Cyclooxygenase-2 induces EP1-and HER-2/Neu-dependent vascular endothelial growth factor-C up-regulation; a novel mechanism of lymphangiogenesis in lung adenocarcinoma[J]. Cancer Res, 2004, 64(2): 554 - 564.


(编辑:左艳芳)