COX-2 在转移性骨肿瘤的表达及临床意义

丁 健,程义权,鲁道海,李敬中 (解放军第 161 中心医院骨科,湖北 武汉 430010)

[摘 要] **目的** 探讨环氧化酶-2(COX-2)在转移性骨肿瘤组织中其蛋白和基因表达情况及其相关的临床意义。**方法** 收集 42 例转移性骨肿瘤组织,采用免疫组化法和原位分子杂交法,研究转移性骨肿瘤组织中 COX-2 蛋白及基因表达与分类的关系。**结果** 转移性骨肿瘤中 COX-2 阳性表达率为 61.9%(26/42);转移性骨肿瘤恶性程度高,其 COX-2 蛋白及 mRNA 均呈阳性高表达,与临床 X 射线分型、有无原发灶和转移瘤部位无关,本组低分化与中分化间 COX-2 阳性表达无差异。**结论** COX-2 的阳性高表达可能参与转移性骨肿瘤的发生发展,也许发挥重要作用。

[关键词] 环氧化酶-2;骨肿瘤;肿瘤转移;免疫组织化学;原位杂交

[中图分类号] R738.1 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2012)02-0131-03

Expressions of COX-2 in bone metastasis tumor and its clinical significance

DING Jian, CHENG Yi-quan, LU Dao-hai, LI Jing-zhong (Department of Orthopaedics, 161st Hospital of PLA, Wuhan Hubei 430010, China)

Abstract: Objective To investigate the expressions of COX-2 in metastasis bone tumor and its related clinical significance. **Methods** The expressions of COX-2 mRNA and protein were detected in 42 cases of bone metastasis tumors by immunohistochemistry and hybridization in situ and the relationship with the classification was also investigated. **Results** The positive expression rate of COX-2 in bone metastasis tumors was 61.9% (26/42). The severer the malignancy of metastasis bone tumors was, the higher the expressions of COX-2 protein and gene were found. The expressions of COX-2 had no correlation with the X-ray types, original focuses and sites of metastasis bone tumors and there was no significant difference in positive expression between metastasis bone tumors of low differentiation and middle differentiation. **Conclusion** High expressions of COX-2 possibly participate in the occurrence and development of metastasis bone tumors and maybe play an important role in it.

Keywords: COX-2; bone tumor; neoplasm metastasis; immunohistochemistry; hybridization in situ

转移性骨肿瘤是原发于人体其他脏器而转移到骨组织的肿瘤,发生率约占全身转移性肿瘤的 15%~20%,仅次于肺转移和肝转移,位列第三[1]。临床上,癌症患者出现骨转移常意味着生活质量下降及死亡率增加。近来,许多学者发现环氧化酶-2(COX-2)分别在不同的肿瘤组织中高表达[2],但有关其在骨组织转移肿瘤中的表达的情况目前研究并不多。本实验旨在探讨 COX-2 在转移性骨肿瘤组织中其蛋白和基因表达情况及其相关的临床意义,进一步为临床使用 COX-2 抑制剂干预转移性骨肿瘤寻找理论支持。

1 材料与方法

1.1 标本与试剂

收集 2008 年 7 月至 2010 年 12 月本院骨科术后病理确诊的 42 例恶性肿瘤骨转移病例标本,病例构成为男性 27 例,女性 15 例,其中有原发灶 16 例(肺癌 3 例,乳腺癌 2 例,肾癌 2 例,前列腺癌 2 例,胃癌 1 例,肝癌 1 例,结肠癌 2 例,直肠癌 1 例,甲状腺癌 1 例,宫颈癌 1 例),未明确原发灶 26 例。组织标本石蜡包埋后,制成 4~6 μm 连续切片,取片后置烤箱,在 58~60 ℃,30~60 min 时紧密粘附以备用。一抗、免疫组化试剂盒及原位杂交试剂盒均购自武汉博士德公司。

1.2 方法

免疫组化染色:标本切片脱蜡至水,置于抗原修复液中 95 ℃加热 10 min;用 300 mL/L 双氧水与蒸馏水 1∶10 混合,室温下 10 min 灭活内源性过氧化物酶;室温下滴加 BSA 封闭液封闭,20 min 后滴加兔抗人 COX-2 多抗(第一抗体,按 1∶150 稀释),37 ℃孵育 1 h。用 pH 为 7.2 的 PBS 液洗 2 min,3 次。然后滴加生物素标记抗兔第二抗体,在 37 ℃孵育 20 min。用 pH 为 7.2 的 PBS 液洗 2 min,3 次。滴加 SABC(链霉亲和素-过氧化物酶),在 37 ℃孵育 20 min。用 pH 为 7.2 的 PBS 液洗 25 min,4 次。最后滴加新配的 DAB,并在显微镜下观察,棕黄色染色的即为阳性。以苏木精复染切片。阳性对照为结肠癌组织,以 PBS 代替一抗体作为阴性对照。

原位杂交:用地高辛标记的 COX-2 探针总长 0.9 kbp,COX-2 靶基因 mRNA 序列是:①5'-ATG TAT GAG TGT GGG ATT TGA CCA GTA TAA-3';②5'-GAA GGT TGT GAA TAA

[作者简介] 丁 健(1975-),男,湖北省武汉市人,主治医师,本科,主要从事骨科疾病临床方面的研究。电话:(027)50169087, E-mail: Chounanzi@163.com

[通讯作者] 李敬中,主任医师,解放军第 161 医院骨科

[收稿日期] 2011-11-15 [修回日期] 2011-12-22

CAT TCC CTT CCT TCG-3';③5'-TGC CTC AAT TCA GTC TCT CAT CTG CAA TAA-3';常规脱蜡至水,用 300 mL/L 双氧水与蒸馏水 1:10 混合,室温下 10 min 灭活内源性酶;用 30 g/L 柠檬酸稀释的胃蛋白酶在 37 ℃孵育 20 min 以暴露 mRNA 片段,以 10 g/L 多聚甲醛/0.1 mol/L PBS 固定 10 min;每张切片 20 μl 预杂交液,38 ℃孵育 2 h;每张切片 20 μl 杂交液,38 ℃恒温过夜;用 SSC 洗涤,滴加封闭液在 37 ℃下作用 30 min,PBS 洗涤 5 min,4 次;滴入生物素化抗地高辛,在 37 ℃下作用 1 h;最后滴加 SABC,在 37 ℃下作用 20 min,用 PBS 洗涤 5 min,4 次;行 DAB 显色。

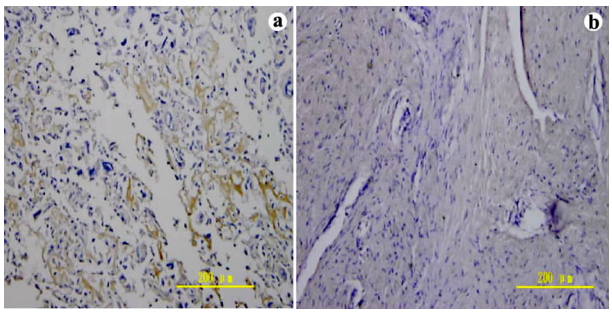
结果评价:棕黄色染色为阳性信号。染色强度分级评价,切片上所见阳性细胞的范围可分为 0 ~4 级,0 级:无阳性细胞。1 级:阳性细胞占细胞总数的比例小于等于 25%。2 级:阳性细胞占细胞总数的 26% ~50%。3 级:阳性细胞占细胞总数的 51% ~75%;4 级:阳性细胞占细胞总数的 76% ~100%。

1.3 统计处理

应用 SPSS 18.0 软件进行统计学处理,行 χ^2 检验,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

免疫组化染色显示 COX-2 蛋白在人体转移性骨肿瘤细胞胞浆中表现为强阳性表达(图 1),42 例标本中 26 例表现为阳性表达,阳性率为 61.9%。原位杂交显示 COX-2 在转移性骨肿瘤细胞胞浆中过度表达(图 2)。42 例组织标本中 COX-2 表达情况见表 1。



a:COX-2 在转移性股骨肿瘤组织中呈阳性表达;b:COX-2 在肱骨纤维结构不良组织中呈阴性表达

图 1 免疫组化染色显示 COX-2 蛋白在骨肿瘤组织中的表达(SABC 法 ×200)

3 讨论

近年来,COX-2 与肿瘤的关系的研究逐渐成为热点,很多文献报道了 COX-2 在胃癌、肺癌、乳腺癌、结肠癌等肿瘤中均呈现出高表达[2-5]。本文研究发现 COX-2 在转移性骨肿瘤组织中其蛋白和基因的高表达,并为进一步在临床上应用 COX-2 抑制剂对转移性骨肿瘤治疗提供依据。临床上使用 COX-2 抑制剂姑息治疗转移性骨肿瘤患者,可帮助患者缓解疼痛,提高

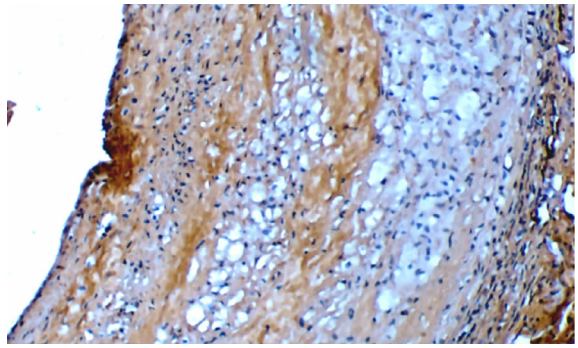


图 2 原位杂交显示 COX-2 mRNA 在转移性骨肿瘤组织中的表达(SABC 法 ×200)

表 1 COX-2 在转移性骨肿瘤组织中表达情况

分类		例数 (n)	阳性表达 (n)	阳性率 (%)
原发病灶	有	16	10	62.5
	无	26	16	61.5
X 线分类	溶骨性	30	18	60.0
	成骨性	6	4	66.7
	混合型	6	4	66.7
组织病理	高分化	0		
	中分化	20	12	60.0
	低分化	22	14	63.6
肿瘤部位	脊柱	20	13	65.0
	骨盆	10	6	60.0
	四肢	12	7	58.3

生存质量。研究表明,COX-2 和其催化代谢产物前列腺素共同在肿瘤发生中起着重要作用,对细胞有丝分裂进行调节,加速肿瘤血管增生,促进细胞间粘附,维护肿瘤细胞的生长,抑制肿瘤细胞凋亡[6-8]。Williams 等[9]报道,COX-2 在结肠癌细胞中的表达可抑制巨噬细胞活化及中性粒细胞浸润,并可调节癌细胞中多种基质金属蛋白酶(MMPs)活性,而 MMPs 的活性同肿瘤细胞对间质、基底膜的浸润、侵袭,血管侵入和转移关系密切。我们的研究显示,当全身多种恶性肿瘤(结肠癌,肺癌,前列腺癌,膀胱癌,乳腺癌,宫颈癌,肾癌等)出现骨转移后,其 COX-2 mRNA 和蛋白依然呈现出高表达(61.9%)。COX-2 在转移性骨肿瘤中的表达同肿瘤的原发灶是否明确,肿瘤发生部位,成骨性及溶骨性分类之间,并无显著性差异。我们发现,转移性骨肿瘤其恶性程度高,乃全身性恶性肿瘤由血行转移等途径而来,肿瘤细胞分化程度低,异型性明显,而其 COX-2 多呈 3 级至 4 级的高表达。鉴于 COX-2 在多种恶性肿瘤中呈现为高表达,COX-2 已经成为肿瘤预防和化疗的新目标靶点。Hida 等[10]报道,COX-2 抑

制剂的早期使用能有效地预防家族性腺瘤息肉病的发病和爆发性息肉继发性肠癌的发生。我们的研究结果表明:COX-2 蛋白及其 mRNA 在全身多种来源的转移性骨肿瘤细胞中呈现高表达,提示 COX-2 与全身性恶性肿瘤的骨转移、骨侵袭的发生、发展和预后有着紧密的联系。

[参考文献]

[1] Gustafson Svard C, Lilja I, Hallbook O, et al. Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 gene expression in human colorectal adenocarcinomas and in azoxymethane induced colonic tumours in rats[J]. Gut, 1996, 38(1): 79 – 84.

[2] 奚 豪, 朱延波, 蒋虹伟, 等. 食管癌 COX-2 和 VEGF 的表达及其与临床病理特征的关系[J]. 局解手术学杂志, 2011, 20(2): 157 – 159.

[3] Harmey JH, Bucana CD, Lu W, et al. Lipopolysaccharide-induced metastatic growth is associated with increased angiogenesis, vascular permeability and tumor cell invasion[J]. Int J Cancer, 2002, 101(5): 415 – 422.

[4] Soslow RA, Dannenberg AJ, Rush D, et al. COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors[J]. Cancer, 2000, 89(12): 2637 – 2645.

[5] 张有成, 王 杉, 张 辉, 等. 选择性环氧化酶2 抑制剂 NS-398 抗结肠癌机制及对 5-氟尿嘧啶化疗的辅助作用[J]. 中华医学杂志, 2004, 84(7): 583 – 586.

[6] 卢长伟, 董家鸿. c-MET 和 COX-2 在肝细胞癌中表达的意义及其相关性[J]. 局解手术学杂志, 2007, 16(3): 161 – 163.

[7] Costa C, Soares R, Reis Filho JS, et al. Cyclo-oxygenase 2 expression is associated with angiogenesis and lymph node metastasis in human breast cancer[J]. J Clin Pathol, 2002, 55(6): 429 – 434.

[8] 聂富祥, 陈根元. 转移性骨肿瘤中 COX-2, VEGF 及微血管密度的关系[J]. 第四军医大学学报, 2007, 84(7): 846 – 848.

[9] Williams CS, Tsujii M, Reese J, et al. Host cyclooxygenase-2 modulates carcinoma growth[J]. J Clin Invest, 2000, 105(11): 1589 – 1594.

[10] Hida T, Kozaki K, Ito H, et al. Significant growth inhibition of human lung cancer cells both in vitro and in vivo by the combined use of a selective cyclooxygenase 2 inhibitor, JTE-522, and conventional anticancer agents[J]. Clin Cancer Res, 2002, 8(7): 2443 – 2447.

(编辑:杨爱军)

·个案与短篇·

自制切口保护圈在腹腔镜胃癌手术中的应用

吴 媚, 曾 俊 (第三军医大学西南医院手术麻醉科, 重庆 400038)

[关键词] 切口保护圈;腹腔镜胃癌手术;应用
[中图分类号] R656.6;R608 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2012)02-0133-01

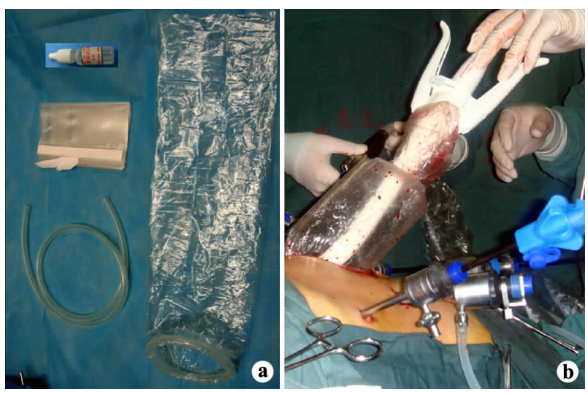
腹腔镜胃癌手术是近年来发展起来的新兴医疗技术之一,具有手术创伤小、术后恢复快、并发症少、住院时间短等优点,目前已广泛应用于临床[1-2]。我院于 2007 年 9 月在腹腔镜胃癌手术中应用自制的切口保护圈,取得了较好的效果,现将其使用方法报告如下。

1 材料与方法

腔镜小保护套 1 个,24 号硅胶管 1 根,无菌石蜡油(图 1a)。远端胃与十二指肠离断后,近端胃食管游离出来后,腹腔镜手术需要在腹部再开 2 ~ 3 cm 小切口做吻合,吻合完后需关闭这个切口后再重新充二氧化碳建立气腹。现应用自制的切口保护圈后无需在关闭切口后再建立气腹,只需将保护圈口系紧,直接用吻合器做吻合,让切口自然形成一个腔,就可建立气腹(图 1b)。

2 应用体会

自制切口保护圈在腹腔镜胃癌手术中的应用取得了较好效果,主要有以下几方面:①自制切口保护圈减少了切口感染的机会;②自制切口保护圈操作方便,节省手术时间,减少了反复操作带来的损伤;③取材方便,制作简单,有临床实用价值。



a:保护圈材料;b:术中应用

图 1 自制切口保护圈的应用

[参考文献]

[1] 方灵燕, 曾 俊, 卢 艳. 侧仰卧位在腹腔镜下脾脏切除术中的应用[J]. 护理学杂志, 2009, 24(2): 4.

[2] 马先翠, 宋 娟. 腹腔镜胃癌手术病人的护理[J]. 局解手术学杂志, 2007, 16(3): 211.

[收稿日期] 2011-11-14 [修回日期] 2011-12-15

(编辑:何泓睿)