维普资讯 http://www.cqvip.com

论 著 文章编号:0253-3626(2007)09-0915-04

COX-2、VEGF-C 在乳腺癌中的表达及与淋巴转移的关系

高砚春,吴诚义

(重庆医科大学附属第一医院内分泌外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨环氧化酶 -2(COX-2)、血管内皮生长因子 C(VEGF-C)在乳腺癌中的表达及其与乳腺癌淋巴结转移的关系。方法:采用免疫组化法(SP 法),检测 45 例乳腺癌组织中 COX-2、VEGF-C 的蛋白表达情况,分析其与患者年龄、肿瘤大小、雌、孕激素受体状况、临床分期、腋窝淋巴结转移的关系。结果:在 45 例乳腺癌组织中,COX-2、VEGF-C 蛋白表达的阳性率分别为 84.4%(38/45) 和 71.1%(32/45)。二者在Ⅲ+Ⅳ期乳腺癌中的阳性表达率明显高于Ⅰ+Ⅱ期乳腺癌, 分别为 93.3%:66.7%和 83.3%:46.7%($P<0.05$) , 在腋窝淋巴结阳性组表达率高于腋窝淋巴结阴性组, 分别为 92.9%:70.6%和 82.2%:52.9%($P<0.05$),但与患者年龄、肿瘤大小、雌激素、孕激素受体状况等无明显相关性($P>0.05$)。COX-2 阳性的乳腺癌组织 VEGF-C 表达率高于 COX-2 阴性组,分别为 76.2%:43.6%($P<0.05$)。COX-2 与 VEGF-C 在乳腺癌中的表达成正相关($r=0.579$,$P<0.05$)。结论:乳腺癌组织中,COX-2、VEGF-C 表达均与肿瘤临床分期、腋窝淋巴结转移呈明显相关关系。COX-2 可促使肿瘤细胞分泌 VEGF-C,促进淋巴结转移增加。

【关键词】乳腺肿瘤;环氧化酶 -2;VEGF-C;淋巴转移

【中国图书分类法分类号】R737.9 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-01-18

The role of Cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor-C in lymphatic metastasis of breast cancer

GAO Yanchun, et al

(*Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】 *Objective*: To investigate the expression of Cyclooxygenase-2 (COX-2)and vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) proteins, and their relationship with lymphatic metastasis of breast cancer. *Methods*: Immunohistochemical staining was used to detect the expression of COX-2 and VEGF-C proteins in 45 cases of breast cancer. The relationship was analyzed between the expression of VEGF-C, COX-2 and age, tumor size, the protein expression of estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PR), clinic phase, axillary lymph node metastasis. *Results*: The expression rates of COX-2 and VEGF-C in Ⅲ and Ⅳ stages of breast cancer were higher than those of Ⅰ and Ⅱ stages ($P<0.05$). There was higher expression in the positive group of axillary lymphnode metastasis than that in the negtive group ($P<0.05$). However, there were no correlations with ages, tumor size, ER and PR, etc. The expression rate of VEGF-C in the COX-2-positive group was higher than that in the negtive group, which were 76.2% vs 43.6%, respectively ($P<0.05$).The expression of COX-2 and VEGF-C in breast cancer showed a positive correlation ($r=0.579$, $P<0.05$) *Conclusions*: In breast cancer, The expression of COX-2 is significantly associated with clinic stage and axillary lymph node metastasis, and COX-2 could promote tumor cells to secrate VEGF-C and then accelerate lymphatic metastasis.

【Key words】 Breast cancer; COX-2; VEGF-C; Lymphatic metastasis

血管内皮生长因子 C(VEGF-C)是特异性促淋巴管生成因子, 环氧化酶-2 (Cyclooxygenase-2, COX-2)是前列腺素合成的限速酶,仅在炎症和肿瘤中表达,可通过抑制肿瘤细胞凋亡,促进肿瘤血管生成,增加肿瘤侵袭力等多种机制,参与调节多种肿瘤的发生发展过程[1]。近期研究发现,COX-2 可促进肿瘤淋巴管生成,导致远处转移。本实验拟通过检测乳腺癌组织中 COX-2、VEGF-C 蛋白表达情况,探讨 COX-2 在乳腺癌淋巴转移中的作用。

作者介绍: 高砚春(1976-),女,硕士,
主要研究方向:乳腺癌基础与临床。

基金项目: 重庆市卫生局科研项目(03-02-074)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1 材料与方法

1.1 标本来源

收集川北医学院附属医院普外科 2003 年 10 月 ~2005 年 3 月手术切除乳腺癌标本石蜡块 45 例，均经病理组织学检查证实。均为女性患者，术前未接受放疗或化疗，年龄 26~71 岁，平均 46.6 岁。肿瘤大小 T_1 4 例，T_2 17 例，T_3 21 例，T_4 3 例。病理类型：浸润性导管癌 35 例，单纯癌 4 例，粘液癌 3 例，髓样癌 2 例，浸润性小叶癌 1 例。其中有淋巴结转移 28 例，无淋巴结转移 17 例。

1.2 主要试剂及仪器

鼠抗人 VEGF-C 多克隆抗体购于北京中山生物技术有限公司，工作浓度 1:40；兔抗人 COX-2 单克隆抗体（工作液），SP 试剂盒，DAB 显色剂均购于福建迈新公司。

1.3 方 法

所有乳腺组织石蜡块均制成 4μm 厚组织切片，分别进行 HE 染色和免疫组化研究。免疫组化染色采用 SP 法，以 PBS 代替一抗作为阴性对照。阳性对照为迈新公司已证实的有 COX-2、VEGF-C 阳性表达的结肠癌组织切片。

1.4 结果判断

免疫组化结果以胞质内出现特异性染色深浅参考文献[2]评分：0 分无色，1 分为淡黄色，2 分为棕色，3 分为棕褐色；再将染色细胞所占百分比打分：无阳性细胞 =0 分，1% ~ 10%=1 分，11% ~ 50%=2 分，≥51%=3 分。两项乘积即为该例免疫组化得分。乘积>3 分定为阳性。

1.5 统计学分析

结果采用 χ^2 检验和 t 检验。统计学处理采用 SPSS10.0 统计分析软件。以 $P<0.05$ 为具有统计学差异。

2 结 果

2.1 COX-2 和 VEGF-C 表达及其相关性

COX-2、VEGF-C 阳性表达的乳腺癌组织，在镜下均表现为细胞浆内出现黄棕色颗粒，且绝大多数定位于肿瘤细胞，少量间质中淋巴管内皮细胞也有表达。45 例乳腺癌石蜡组织标本中，32 例在胞质中检测到 VEGF-C 表达，阳性率为 71.1%(32/45)；38 例在胞质中检测到 COX-2 表达，阳性率为 84.4%；27 例癌组织中，二者在同一标本中被检测到，阳性率 60.0%(27/45)，5 例癌组织中只检测到 VEGF-C，11 例癌组织中只检测到 COX-2，2 例乳腺癌标本中，上述指标均未被检出。COX-2 阳性的乳腺癌组织中 VEGF-C 表达率为 76.2%，较 COX-2 阴性组中 VEGF-C 表达率 43.6%高。经相关分析发现，COX-2 与 VEGF-C 在乳腺癌中表达成正相关（r=0.579，$P<0.05$），见表 1。

表 1 乳腺癌中 COX-2、VEGF-C 表达的相关性

COX-2	n	VEGF-C 蛋白		r	P
		+	−		
+	38	29	9		
−	7	3	4	0.579	0.05

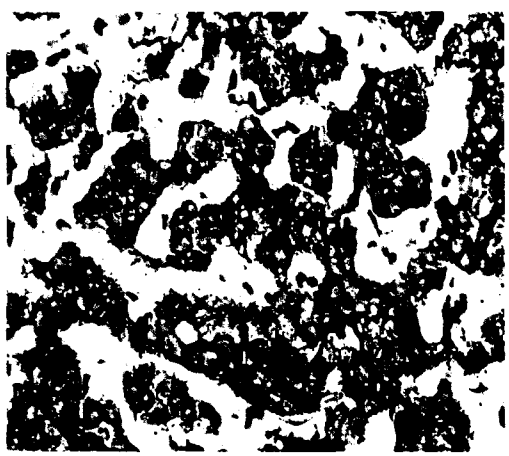


图 1 VEGF-C 在乳腺癌中的表达(SP×400)

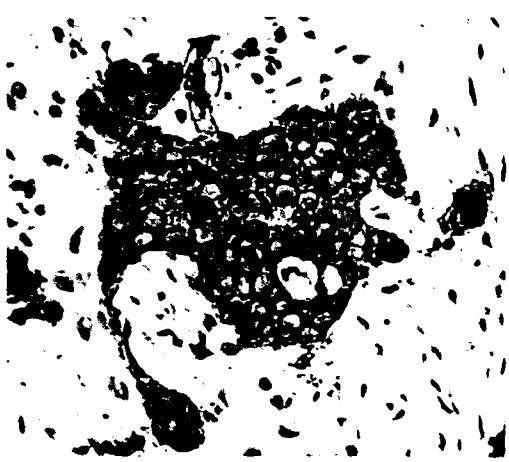


图 2 COX-2 在乳腺癌中的表达(SP×400)

2.2 COX-2 和 VEGF-C 表达与临床病理特征的关系

本实验中 COX-2、VEGF-C 表达情况与患者年龄、肿瘤大小、雌、孕激素受体状况等因素无明显相关性。肿瘤临床分期Ⅲ+Ⅳ组的 COX-2 和 VEGF-C 蛋白表达阳性率分别为 93.3%和 83.3%，明显高于Ⅰ+Ⅱ期组的 66.7%和 46.7%（$P<0.05$），见表 2。

2.3 COX-2、VEGF-C 表达与乳腺癌腋窝淋巴结转移的关系

COX-2、VEGF-C 表达情况与乳腺癌腋窝淋巴结状况关系密切。腋窝淋巴结阴性组 COX-2 阳性率 70.6%(12/17)；VEGF-C 阳性率 52.9%(9/17)。腋

维普资讯 http://www.cqvip.com

窝淋巴结阳性组 COX-2(-)2 例,COX-2(+)26 例,阳性率 92.9%;VEGF-C(-)5 例,VEGF-C(+)23 例,阳性率 82.2%。VEGF-C、COX-2 表达率腋窝淋巴结阳性组明显高于腋窝淋巴结阴性组($P<0.05$),差异有统计学意义,见表 2。COX-2(+)组中发生腋窝淋巴结转移 26 例,转移率 68.4%(26/38),较 COX-2(-)组发生腋窝淋巴结转移的转移率 28.6%(2/7)高;VEGF-C(+)组中发生腋窝淋巴结转移 23 例,转移率 71.9%(23/32),较 VEGF-C(-)组发生腋窝淋巴结转移的转移率 38.5%(5/13)高。该两组间比较差异显著($P<0.05$)。45 例乳腺癌标本中,同时表达 COX-2 和 VEGF-C 的 27 例,腋窝淋巴结转移率高达 88.9%(24/27);仅表达 COX-2 或 VEGF-C 的 15 例,腋窝淋巴结转移率仅为 25.0%(4/16);而表达均为阴性的 2 例,无 1 例腋窝淋巴结转移,结果有显著性差异($P<0.05$),见表 3。

进一步分析发现,45 例乳腺癌标本共有淋巴结 216 枚,发生癌转移 98 枚,总阳性率 45%。COX-2(+)发生淋巴结癌转移 76 枚,阳性率 35.2%(76/216);COX-2(-)腋窝淋巴结转移率 10.2%(22/216);VEGF-C(+)发生腋窝淋巴结转移 62 枚,阳性率 28.7%(62/216),VEGF-C(-)腋窝淋巴结转移率为 16.7%(36/216)。COX-2、VEGF-C 表达阳性组腋窝淋巴结癌转移的数量较阴性组高($P<0.05$)。

表 2 COX-2、VEGF-C 表达与临床病理特征的关系

	n	COX-2 蛋白		P	n	VEGF-C 蛋白		P
		+	-			+	-	
Age(Year)								
≤50	24	20	4	>0.05	24	17	7	>0.05
>50	21	18	3		21	15	6	
ER								
+	16	11	5	>0.05	16	7	9	>0.05
-	29	27	2		29	25	4	
PR								
+	19	15	4	>0.05	19	11	8	>0.05
-	26	23	3		26	21	5	
Tumor size								
T_1+T_2	21	19	5	>0.05	21	14	7	>0.05
T_3+T_4	24	22	2		24	18	6	
Clinic phase								
Ⅰ+Ⅱ	15	10	5	<0.05	15	7	8	<0.05
Ⅲ+Ⅳ	30	28	2		30	25	5	

表 3 COX-2、VEGF-C 表达与乳腺癌腋窝淋巴结转移的关系

腋窝淋巴结	n	COX-2 蛋白		P	n	VEGF-C 蛋白		P
		+	-			+	-	
-	17	5	12		17	8	9	
+	28	2	26	<0.05	28	5	23	<0.05

3 讨 论

大量研究表明,COX-2 在多种肿瘤中有较高表达,且一直被认为是消化系统癌症发生过程中的早期事件[3,4]。其致癌机制主要在于促进细胞增殖,抑制凋亡[5],增加肿瘤细胞侵袭力及促进肿瘤血管生成。其促进血管生成的途径是:COX-2 高表达促使 PGE2 生成增多,再作用于 EP2 受体或 EP4 受体或 PPARr,通过 EP/cAMP 途径,激活各种胞内激酶,或通过核受体直接激活促血管生成因子基因如 VEGF

维普资讯 http://www.cqvip.com

等,从而导致血管生成[6]。VEGF-C 是特异性促淋巴管生成因子,可通过结合 VEGFR-3(血管内皮生长因子受体 3)调节胚胎中淋巴管的发育,诱导淋巴管内皮细胞增殖,促进淋巴管的延伸和新生淋巴窦的发育,在胚胎淋巴系统发育中起重要作用。同时,VEGF-C 在肿瘤组织中高表达,促进肿瘤淋巴管生成[7]。Su 等[8]检测人肺癌细胞系中 VEGF-C 与 COX-2 的表达发现,COX-2 过表达细胞系 VEGF-C 显著增高,而 VEGF-D 无变化。前列腺素 E2(PGE2)与 COX-2 介导的 VEGF-C 升高亦有关。使用赫赛汀或 EP1 受体抑制剂可显著抑制 COX-2 或 PGE2 诱导的 VEGF-C 上调。证实 VEGF-C 是 COX-2 的下游基因,COX-2 可通过 PGE2 和 HER-2/Neu 受体途径上调 VEGF-C 表达,促进肿瘤淋巴转移。说明 COX-2 及其产物 PGE2 不但介导肿瘤血管生成,还可能参与肿瘤淋巴管生成。他们同时检测了人肺癌组织,证实 COX-2 和 VEGF-C 表达与肿瘤淋巴转移及远处转移有关。Byeon 等[9]检测了 13 例内镜下粘膜切除和 21 例手术切除的食管鳞癌标本,证实 VEGF-C 表达与肿瘤浸润深度、临床分期及 COX-2 表达水平显著相关。有无淋巴结转移的肿瘤组织中 VEGF-C 表达差异显著(100%:20%,$P<0.05$),说明 COX-2 表达水平与 VEGF-C 表达及肿瘤淋巴结转移有关。Kyzas 等[10]检测了 70 例头颈部鳞癌组织中 COX-2、VEGF-C 的表达情况,VEGF-C 表达水平与喉癌患者死亡率有关。淋巴结转移状况,COX-2、VEGF-C 的联合表达情况是独立的预后因子。提示 COX-2 过表达可刺激 VEGF-C 表达上调,促进淋巴管生成。

本研究中,COX-2、VEGF-C 表达阳性的乳腺癌组织发生腋窝淋巴转移的机率分别为 68.4% 和 71.9%,较二者阴性发生腋窝淋巴转移机率高,分别为 28.6% 和 38.5%。统计腋窝转移淋巴结数发现,检测的 216 枚淋巴结中,发生癌转移的有 98 枚,阳性率 45.4%。COX-2 、VEGF-C 表达阳性组较表达阴性组发生淋巴结癌转移的机率高,分别为 35.2%:10.2% 和 28.7%:16.7%。其中,同时表达 COX-2、VEGF-C 的 27 例乳腺癌组织,发生腋窝淋巴结转移的机率高达 88.9%(24/27);仅表达 COX-2 或 VEGF-C 的 16 例,4 例发生腋窝淋巴结转移,转移率 25.0%;而均为阴性表达的 2 例,无一例腋窝淋巴结转移。反之,腋窝淋巴结阳性组 COX-2 和 VEGF-C 阳性率明显高于腋窝淋巴结阴性组,分别为 92.9%:82.2% 和 70.6%:52.9%($P<0.05$)。此外,临床分期Ⅲ+Ⅳ组中二者阳性率明显高于 I+Ⅱ组,分别为 93.3%:66.7% 和 83.3%:46.7%($P<0.05$)。由上可见,COX-2、VEGF-C 与乳腺癌恶性程度和淋巴结转移情况具有高度一致性,证实 COX-2、VEGF-C 高表达与肿瘤淋巴转移、临床分期密切相关。联合检测 COX-2、VEGF-C 的表达水平较单一指标更有利于准确评估患者病情及预后。进一步分析发现,COX-2 阳性的乳腺癌组织中 VEGF-C 表达率为 76.2%,而阴性组中 VEGF-C 表达率仅 43.6%,COX-2 与 VEGF-C 在乳腺癌中表达成正相关($r=0.579$,$P<0.05$)。提示 COX-2 可诱导乳腺癌细胞生成 VEGF-C,促进乳腺癌组织和其周围淋巴管新生,导致淋巴道转移增加。

参 考 文 献

[1] Saukkonen K,Rintahaka J,Sirula A,et al. Cyclooxygenase-2 and gastric carcinogenesis[J]. APMIS,2003;111(10):915-925.

[2] 许良中. 乳腺病理学[M]. 第 1 版,上海:上海医科大学出版社,1999.395.

[3] Wilson KT,Fu SD,Ramanujam KS,et al. Increased expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenas-2 in Barrett'S esophagus and associated adenocarcinomas[J]. Cancer Res,1998;58(14):2929-2934.

[4] Akhtar M,Cheng YL,Magno RM,et al. Promoter methlation regulates Helicobacter pylori-stimulated cyclooxygenase-2 expression in gastric epithelial cells[J]. Cancer Res,2001;61(6):2399-2403.

[5] Yang WL,Frucht H.Activation of the PPAR pathway induces apoptosis and COX-2 inhibition in HT-29 human colon cancer cells [J]. Carcinogenesis,2001;22(9):1379-1383.

[6] Seno H,Oshimam M,Ishikawa TO,et al. Cyclooxygenase-2 and prostaglandin E(2)receptor EP(2)-dependent angiogenesis in APC(Depta 716)mouse intestinal polps[J]. Cancer Res,2002;62(2):506-511.

[7] Joukov V,Pajusola K,Kaipainen A,et al. A novel vascular endothelial growth factor,VEGF-C,is a ligand for the Flt4 and KDR receptor tyrosine kinases[J]. EMBO J,1996;15(2):290-298.

[8] Su JL,Shih JY,Yen ML,et al. 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):554-64.

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

[10] Kyzas PA,Stefanou d,Agnantis NJ. COX-2 expression correlates with VEGF-C and lymph node metastases in patients with head and neck squamous cell carcinoma[J]. Mod Pathol,2005;18(1):153-160.