维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2003)03－0276－03

胃癌组织 COX－2 的表达及其与细胞增殖和凋亡的关系

高 青[1],刘 兴[2] 王丕龙[1]

(1.重庆医科大学临床学院消化内科,重庆 400016;2.重庆急救中心中心实验室,重庆 400014)

【摘 要】目的:探讨环氧化酶－2(cyclooxygenase－2,COX－2)在胃癌组织中的表达与癌细胞增殖和凋亡的关系。方法:采用免疫组织化学的方法检测 43 例胃癌患者 COX－2 和增殖细胞核抗原(PCNA)的表达,用 TUNEL 法检测原位细胞凋亡的情况。分别计算细胞增殖指数(MI)和凋亡指数(AI)。结果:胃癌组织 COX－2 表达的阳性率为 60.47%,明显高于对照组($P<0.01$)。COX－2 的高表达与胃癌淋巴结的转移和临床分期有关,与肿瘤大小、浸润深度、分化程度均无关。COX－2 阳性胃癌组中 MI 高于 COX－2 阴性胃癌组,而 AI 却低于 COX－2 阴性胃癌组(P 均<0.01)。结论:COX－2 的过度表达可促进胃癌细胞增殖、抑制细胞凋亡,在胃癌的发生、发展过程中起着重要的作用。

【关键词】胃癌;环氧化酶－2;细胞增殖;细胞凋亡

【中国图书分类法分类号】R735.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2002－10－10

The expression of COX－2 and its relationship to the apoptosis and proliferation in gastric cancer

GAO Qing, et al

(*Department of Gastroenterology, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】 *Objective*: To investigate the expression level of COX－2 and their effects on cell proliferation activity and apoptosis degree in gastric cancinoma. *Methods*: The expression of COX－2, proliferating cell nuclear antigen(PCNA) and apoptosis in 43 cases of gastric cancer were studied by immunohistochemistry and TUNEL methods, and the proliferation index (PI) and apoptotic index(AI) were defined respectively. *Results*: The positive expression rate of COX－2 was 60.47% in gastric carcinoma tissue. It was significantly higher than that in the control group. Overexpression of COX－2 in gastric carcinoma was related to its lymph node metastasis and clinical stage, but it did not correlate with the size of tumor, depth of the invasion and the differentiation degree($P>0.05$). In the group with COX－2 positive expression AI was higher than that of the group with COX－2 negative expression, whereas AI was higher in the latter group than in the former ($P<0.01$). *Conclusion*: The expression level of COX－2 may have a close correlation with cell proliferation and apoptosis and they may participate in oncogenesis and progression of gastric carcinoma.

【Key words】 Cyclooxygenase－2; Gastric carcinoma; Proliferating cell nuclear antigen(PCNA); Apoptosis

细胞凋亡和增殖细胞核抗原(PCNA)可在分子水平反映肿瘤的生物学特性,而异常的细胞凋亡与增殖在胃癌的形成及发展中具有重要的意义[1,2]。研究表明,长期服用非甾体类抗炎药可降低消化道肿瘤的发病率,可能与抑制 COX－2 在消化道肿瘤的过度表达有关,但具体机制不清楚[3]。本研究利用免疫组化法检测胃癌组织中 COX－2 和 PCNA 表达,以及采用 TUNEL 法检测胃癌组织中的凋亡细胞。以探讨 COX－2 与胃癌细胞增殖和凋亡之间的关系,以及 COX－2 与胃癌各病理因素之间的关系。试图为临床开辟新的抗癌途径提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

取自 1997～2001 年重庆医科大学附属第一医院和重庆急救中心手术切除的胃癌标本共 43 例,男性 29 例,女性 14 例。年龄 32～71 岁,平均 51.2 岁。15 例幽门螺杆菌(H. pylori)阴性和组织学相对正常者(男性 10 例,女性 5 例,年龄 17～39 岁)的胃窦粘膜组织作为正常对照。胃癌患者术前未进行化疗或放疗。病理组织切片(5μm)由专职病理科医师复核。

作者介绍:高 青(1963－),男,副教授,硕士,主要研究方向:胃肠肿瘤。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.2 试剂

COX-2 单克隆抗体购自 Santa Cruz 公司,SP、PCNA 和细胞凋亡试剂盒购自北京中山试剂公司。

1.3 免疫组织化学方法

采用 SP 法,肿瘤组织切片进行微波抗原修复。用兔抗 COX-2 蛋白的单克隆抗体(Inc. 产品,工作浓度 1:250)行 COX-2 染色。PCNA 和细胞凋亡的检测按试剂盒说明进行。

1.4 结果判定

COX-2 的判断以 >10% 的癌细胞的胞浆出现棕黄色颗粒者判断为阳性。TUNEL 阳性细胞和 PCNA 阳性细胞均为核呈色或棕黄色,分别计数 1000 个以上的肿瘤细胞中 TUNEL 阳性细胞和 PCNA 阳性细胞所占百分比,作为细胞凋亡指数(AI)和细胞增殖指数(PI)。

1.5 统计分析

所有资料经 SAS 统计软件处理。

2 结 果

表 1 不同病变胃组织中的 COX-2 表达情况

组织学类型	总例数	COX-2 阳性	COX-2 阴性	阳性率%
浅表性胃炎	15	0	15	0
胃癌	43	26	17	60.47*

* $P<0.001$,与浅表性胃炎相比

表 2 胃癌组织 COX-2 的表达与临床病理因素的关系

病理因素	例数	COX-2+(n,%)	COX-2-(n,%)	P 值
肿瘤大小				
<5cm	24	14(58.33)	10(41.67)	
≥5cm	19	12(63.15)	7(36.84)	>0.05
浸润深度				
未及浆膜	15	8(53.33)	7(46.67)	
浆膜或以外	28	18(64.29)	10(35.71)	>0.05
肿瘤分化*				
分化好	20	11(55.00)	9(45.00)	
分化差	23	15(65.22)	8(34.78)	>0.05
淋巴结转移				
有	24	18(75.00)	6(25.00)	
无	19	8(42.11)	11(57.89)	<0.05
肿瘤分期				
Ⅰ+Ⅱ	14	5(35.71)	9(64.29)	
Ⅲ+Ⅳ	29	21(72.41)	8(27.59)	<0.05

注:*分化好包括高分化及中分化腺癌;分化差包括低分化、未分化腺癌以及粘液腺癌,印戒细胞癌

2.1 COX-2 在胃癌组织中的表达情况

COX-2 的阳性染色主要为胞质着色,大多数分布在癌组织中。从表 1 中可见:COX-2 在胃癌中的表达明显增高,阳性率 60.47%,而胃炎组未检出 COX-2 的表达,两者的差异具有显著性($P<0.05$)。

2.2 COX-2 表达与胃癌临床病理特征的关系

从表 2 中可见:COX-2 的表达与胃癌肿瘤的大小、浸润深度和肿瘤的分化无关($P>0.05$)。在淋巴结转移组中 COX-2 表达的阳性率明显高于无淋巴结转移组($P<0.05$)。COX-2 与肿瘤分期的关系显示分期晚的病例其 COX-2 表达的阳性率高于分期早的病例($P<0.05$)。

2.3 在不同胃粘膜组织中 MI、AI 分布情况

PCNA 主要表达于胞核,棕黄色,呈弥漫性分布,在胃癌组织表达较高,其 MI 达 64.47±12.58,明显高于浅表性胃炎组($P<0.05$)。凋亡细胞在胃癌中分布较为少见,但细胞凋亡指数仍高于浅表性胃炎组($P<0.05$)。经直线相关分析表明,浅表性胃炎组 MI 与 AI 呈显著正相关性,而胃癌组的 MI 与 AI 之间呈负相关性($P<0.05$)。

表 3 不同胃粘膜组织中 MI 和 AI 的分布情况

组织学类型	总例数	MI	AI
浅表性胃炎	15	5.25±1.93	6.94±3.66
胃癌	43	64.47±12.58	16.45±5.28*

* $P<0.001$,与浅表性胃炎相比

表 4 胃癌组织中 COX-2 的表达与细胞增殖指数和凋亡指数的关系

组别	例数	MI	AI
COX-2(+)	26	71.08±9.21*	13.84±3.67*
COX-2(-)	17	54.04±9.40	20.58±4.77

* $P<0.01$ 与阴性组比较

2.4 胃癌组织中 COX-2 的表达与细胞增殖指数和凋亡指数的关系

从表 4 中可见,胃癌组织中 COX-2 阳性组的 MI 明显高于相应的阴性组,两者有显著性差异($P<0.01$),而 COX-2 表达阳性组的 AI 却低于相应阴性组($P<0.01$)。

3 讨 论

环氧化酶(cyclooxygenase,COX)是前列腺素合成过程中的限速酶,它将花生四烯酸代谢成各种前列腺素产物,后者参与维持机体的各种生理和病理功能。现发现 COX 有 2 个同功酶,即 COX-1 和 COX-2。COX-1 在大多数组织均有表达,主要参与维持机体的正常生理功能。而 COX-2 是一种诱

维普资讯 http://www.cqvip.com

导型酶,在正常生理状态下多数组织检测不到,只有在细胞因子、肿瘤促进剂、癌基因等刺激下才能在某些细胞内迅速产生[4]。研究表明,在胃癌、结肠癌等消化道肿瘤中,COX-2 呈高度表达,与胃癌淋巴的转移以及 TNM 临床病理分期密切相关,但与组织病理分级、肿瘤大小、静脉癌栓不相关[5]。本研究也显示了类似的研究结果,说明 COX-2 的过度表达参与了胃癌的发展过程,并可增强胃癌的淋巴转移,提示预后不佳。现认为 COX-2 的表达导致肿瘤细胞的淋巴结转移可能的机制(1)COX-2 的高表达使金属蛋白酶-2 活性增加,膜金属蛋白酶表达增多,有利于侵袭淋巴结而发生转移。(2)肿瘤细胞转移以及在转移部位的生长依赖于肿瘤血管生成。而 COX-2 的高表达可上调血管内皮生长因子(VEGF)的表达,促进肿瘤血管的生成,是调控肿瘤血管生成的重要因素之一[6]。由于目前对内皮细胞的免疫标记抗体不能完全区分淋巴管和血管,在肿瘤新生血管中肯定包含新生的淋巴管成分,其机制尚不十分清楚,但血管内皮生长因子可能对淋巴管内皮细胞同样具有促分裂和增殖作用,诱导淋巴管生成[7]。

COX-2 参与了胃癌的发生和发展过程,但机制目前尚不清楚。现认为在肿瘤发生和发展过程中,细胞增殖和凋亡之间的平衡失调是最早的生物学改变。PCNA 是 DNA 多聚酶的一种辅助蛋白,在 DNA 合成中发挥重要的作用,是衡量肿瘤增殖能力和恶性程度的可靠指标之一[2]。细胞凋亡是细胞受到内外信号的启动后主动参与并遵循一定程序的死亡过程,而细胞凋亡的异常会在恶性疾病的发生、发展中起重要作用[8]。因此研究 COX-2 的表达与胃癌细胞增殖和凋亡之间的关系,从细胞动力学和分子生物学角度探讨 COX-2 与胃癌的关系,无疑将有重要的理论意义。本研究发现,代表细胞增殖状态的 PCNA,在胃癌组织中有很高的阳性率,明显高于对照组。凋亡细胞在胃癌组织中却很少见,但仍高于对照组。说明在胃癌的发展过程中,不仅存在癌细胞的过度增殖,而且还存在癌细胞异常凋亡,二者之间的失衡在胃癌的发展过程中起到了重要的作用。但 COX-2 表达状态的不同是否会影响胃癌的 MI 和 AI 变化,目前尚少见报道。本研究胃癌组中 COX-2 表达阳性组的 MI 明显高于阴性组($P<0.01$),而 AI 则低于 COX-2 阴性组,表明 COX-2 的过度表达促进了胃癌细胞的增殖、抑制癌细胞凋亡,导致胃癌细胞增殖和凋亡之间的失衡,可能是胃癌发生、发展的重要因素之一。体外研究显示,特异性和非特异性 COX-2 抑制剂可明显诱导肿瘤细胞凋亡并抑制其生长,而特异性 COX-1 抑制剂无此效应[9]。Sawaoka[10]等用 MKN45 胃癌细胞接种裸鼠,视察 NS-398(选择性 COX-2 抑制剂)和消炎痛(非选择性 COX-2 抑制剂)对胃癌动物模型肿瘤的抑制作用,结果两种药物均能诱导肿瘤细胞凋亡,抑制细胞复制。同时肿瘤体积与肿瘤组织中凋亡细胞数目呈负相关,说明 COX-2 抑制剂可通过抑制 COX-2 的过度表达,而抑制肿瘤细胞增殖、诱导细胞凋亡,起到抑制肿瘤生长的作用。而 COX-2 过度表达导致胃癌细胞增殖与细胞凋亡不平衡的机制目前尚不十分清楚。Tsujii 等[11]认为 COX-2 的表达增高可引起 bcl-2 高度表达,降低 E-钙粘蛋白的活性,抑制细胞凋亡,从而导致肠道肿瘤的发生,并且可以增加恶性肿瘤细胞侵袭力,表明 COX-2 的过度表达改变了细胞某些增殖和凋亡相关基因的表达,从而促进肿瘤恶性行为的发生。COX-2 也可看作消化道某些肿瘤的催化剂,APC、ras、p53 等基因的突变使 COX-2 表达增高,催化合成大量的前列腺素,导致细胞增殖[12]。

COX-2 的过度表达,抑制了胃癌细胞凋亡、加速细胞增殖,促进了胃癌的发生和发展,这为临床寻找有效的治疗方案提供了新的思路,为 COX-2 抑制剂有可能用于某些肿瘤的预防和治疗提供了一定的理论依据。

参 考 文 献

[1] Moss SF, Calam J, Agarwal B, et al. Induction of gastric epithelial apoptosis by Helicobacter pylori [J]. Gut, 1996; 38: 498-501.

[2] Landberg G, Tan E, Roos G. Flowcytometric multiparameter analysis of proliferating cell nuclear antigen/cyclin and Ki-67 antigen[J]. Exp Cell Res, 1990; 187: 111-118.

[3] Thun MJ, Namboodiri MM, Calle EE, et al. Aspirin use and risk of fatal cancer[J]. Cancer Res, 1993, 53: 1322-1327.

[4] Fu S, Ramanujam KS, Wong A, et al. Increased expression and cellular localization of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in Helicobacter pylori gastritis [J]. Gastroenterology, 1999; 116: 1319-1329.

[5] Murata H, Kawano S, Tsuji S, et al. Cyclooxygenase-2

(下转第 315 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

TUNEL 法检测 2 个月时凋亡细胞数明显高于对照组,并且随着时间推移,凋亡细胞逐渐增多,与空骨陷窝增多呈正相关性;以软骨下区最为明显,与空骨陷窝改变部位置相一致。说明骨细胞凋亡在早期酒精性 ANFH 起着重要作用,但其机理目前尚不清楚,可能与以下因素有关:1. 糖皮质激素是一种细胞凋亡诱导剂,促使成骨细胞和骨细胞凋亡,导致骨细胞减少[6];同时还影响成骨细胞功能,使成骨形作用延迟,造成骨丢失[7]。酒精中毒引起内源性糖皮质激素分泌大量增加,介导细胞凋亡。2. 酒精直接毒性作用对肝细胞损害,锌代谢紊乱[8]。锌元素与多种酶、核酸、蛋白合成密切相关,锌元素缺乏引起细胞周期紊乱导致细胞凋亡[9]。3. 慢性酒精中毒者长期饮食减少,甚至以酒代饭,影响胃肠功能,干扰营养物质的消化、吸收和代谢[10],加重酒精中毒引起的脂质过氧化,促进细胞凋亡[11]。

综上所述,细胞凋亡在酒精性 ANFH 的发生发展过程中起着重要作用。

参 考 文 献

[1] Solomon L, Schntzler H, Seftel H et al. Alcoholic osteonecrosis: an attempted experimental model in the adult rat. in: Arlet J. Ficat RP. Hungerford DS ed[J]. Bone Circulation Baltimore. Williams&Wilkins, 1984:238.

[2] Shih CH, Yang WE, Lee ZI et al. Effect of long-term alcohol on the femoral head of rabbit[J]. Formos Med Assoc, 1991;90:443.

[3] 正义生,毛克亚,李月白. 酒精性股骨头缺血坏死发病机理的实验研究[J]. 中华骨科杂志,1998;18:231.

[4] Wang GJ, Sweet DE Reger SI, et al. Fat-cell changes as a mechanism of avascular necrosis of the femoral head in cotisone-treated rabbit[J]. Bone josurg(Am), 1977;59:729.

[5] Solonmon, J Clinical and therapeutic concepts in ischemic femur head necrosis[J]. Orthopade. 1990;19:200.

[6] Weinstein RS. Jilka RL. Parfitt AM, et al. Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocortocoids[J]. Clin Invest, 1998;102:274~282.

[7] Parfitt AM, Villanueva AR, Foldes J et al. Relations between histologic indices of bone formation: implications for the pathogenesis of spinal osteoporosis[J]. Bone Miner Res. 1995;10:466~473.

[8] Sharma G. Sandhir R. et al. Effect of ethanol on cadmium uptake and metabolism of zinc and copper in rats exposed to cadmium[J]. Nutr 1991;121:87.

[9] John M, Rogers J. Zinc deficiency causes apoptosis but not cell cycle alterations in organogenesis stage rat embryos[J]. Teratology, 1995;52:149.

[10] Thuluvath PJ. Triger DR. Evaluation of nutritional status by using anthropometry in adults with alcoholic and nonalcoholic liver disease[J]. AM Clin Nutr, 1994;60:269.

[11] Schlorff E C, Husain K, Somani S M. Dose and time dependent effects of ethanol on antioxdant system in rat testes[J]. Alcohol. 1999;18(2-3):203-14.

(上接第 278 页)

overexpression enhances lymphatic invasion and metastasis in human gastric carcinoma [J]. Am J Gastroenterol, 1999;94:451-455.

[6] Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, et al. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells[J]. Cell, 1998;93:705-716.

[7] Ohta Y, Watanabe Y, Murakami S, et al. Vascular endothelial growth factor and lymph node metastasis in primary lung cancer[J]. Br J Cancer, 1997;75:1041-1045.

[8] Gerschenson LE, Rotello RJ. Apoptosis: a different type of cell death[J]. FASEB J, 1992;6:2450-2455.

[9] Waston AJ. Chemopreventive effects of NSAIDs against colorectal cancer: regulation of apoptosis and mitosis by COX-1 and COX-2[J]. Histopathology, 1998;13:591~597.

[10] Sawaoka H, Kawano S, Tsuji S, et al. Cyclooxygenase-2 inhibitors suppress the growth of gastric cancer xenografts via induction of apoptosis in nude mice[J]. Am J Physiol 1998;274(6), 1061-1067.

[11] Tsujii M, Dubois RN. Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase-2 [J]. Cell, 1995;83:49-501.

[12] Williams CS, Smalley W, Dubois RN. Aspirin use and potential mechanisms for colorectal cancer prevention [J]. J Clin Invest, 1997;100:1325-1329.