DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.04.037
第24卷第4期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 4
2002年4月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Apr. 2002

文章编号:1000-5404(2002)04-0459-02

论著

肺癌组织NOS活性与MVD的关系及临床意义

姜 涛[1],刘玉林[2],李 晨[2],程庆书[1],刘 锟[1] (第四军医大学:[1]唐都医院胸外科,西安 710038,[2]基础医学部药理学教研室,西安 710032)

提 要:目的 研究肺癌患者肿瘤组织中一氧化氮合酶(NOS)的活性与肿瘤组织微血管密度(MVD)的关系及其临床意义。方法 采用分光光度法检测30例肺癌患者肿瘤组织中NOS的活性,抗Ⅷ因子抗体染色法计数肿瘤组织微血管密度(MVD),并分析其与肿瘤恶性行为之间的关系。结果 肺癌患者肿瘤组织中NOS活性和MVD与肿瘤组织学分级、淋巴结转移明显相关。肿瘤组织中NOS活性和MVD组织学Ⅱ级明显高于Ⅰ级($P<0.05$, $P<0.01$),Ⅲ级明显高于Ⅱ级($P<0.01$),有淋巴结转移者明显高于未转移者($P<0.01$)。肿瘤组织中MVD随NOS活性而增高。结论 肺癌患者肿瘤组织中NOS活性随肿瘤恶性程度而增高,与其促进肿瘤血管生成有关。

关键词:肺癌;一氧化氮合酶;肿瘤组织微血管密度
中图法分类号:R345.44;R734.202 文献标识码:A

Relationship and clinical significance of nitric oxide synthase activity and microvessal density in lung cancer tissue

JIANG Tao, LIU Yu-lin, LI Chen, CHENG Qing-shu, LIU Kun (Department of Thoracic Surgery, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, China)

Abstract: **Objective** To study the relationship between the activity of nitric oxide synthase(NOS) and carcinoma angiogenesis in lung cancer tissues and their clinical significance. **Methods** NOS activity in lung cancer tissue was measured with spectrophotometry. Microvessal density (MVD) was obtained by counting endothelial cells immunostained with anti-factor Ⅷ antibody. Clinical value of NOS activity and MVD were analyzed. **Results** NOS activity and MVD in lung cancer tissue were significantly higher in histologic grade Ⅱ patients than those in grade Ⅰ ($P<0.05$, 0.01), higher in grade Ⅲ than in grade Ⅱ ($P<0.01$), higher in those with lymph node metastasis than those without ($P<0.01$). There was a positive correlation between NOS activity and MVD ($P<0.01$). **Conclusion** NOS activity is significantly related to the malignant behavior of lung cancer, possibly because of its accelerating of carcinoma angiogenesis.

Key words: lung cancer; nitric oxide synthase; microvessal density

一氧化氮(NO)是近年来发现的一种血管活性分子,由一氧化氮合酶(NOS)催化L-精氨酸而生成。已有研究表明,人乳腺癌、宫颈癌和结肠癌等肿瘤组织中均有NOS表达,预示着其在肿瘤的发生发展中起重要作用[1]。肿瘤血管形成是肿瘤生长和转移的基础,近年来受到越来越多的重视,寻找控制肿瘤血管形成的方法已成为肿瘤治疗的热点。有研究发现,NO与血管形成密切相关[2],抑制NOS活性可望成为药物治疗肿瘤的新靶点。本研究通过检测肺癌患者肿瘤组织中NOS活性及微血管密度,探讨NOS活性与肺癌组织学分级和淋巴结转移之间的关系及其在肿瘤血管形成中的作用。

1 临床资料与方法

1.1 临床资料

选2001年9月至2001年10月第四军医大学唐都医院肺癌住院患者30例,均经手术切除后病理证实为非小细胞肺癌,手术前均未做过化疗或放疗。其中淋巴结转移25例,组织学分级Ⅰ级3人,Ⅱ级18人,Ⅲ级9人。肿瘤组织切除后,立即采取标本,放入-80 ℃低温冰箱中保存备用。阴性对照为正常肺组织10例。抗Ⅷ因子抗体和免疫组织化学SABC试剂盒购于武汉博士德生物工程有限公司。NOS检测试剂盒购于南京建成生物研究所。

1.2 方法

1.2.1 肿瘤组织中NOS活性的检测 肿瘤组织匀浆取上清,取50 μl酚试剂法测蛋白含量。NOS活力单位定义为每毫克组织蛋白每分钟生成1 nmol NO为一个酶活力单位,按以下公式计算:NOS(μ·mg prot^{-1})=[(样品管吸光度-空白管吸光度)/呈色物纳摩尔消光系数]×(反应液总体积/取样量)÷(比色光径×反应时间)÷蛋白 mg·L^{-1}。

1.2.2 肿瘤组织微血管密度检测 石蜡切片经二甲苯及梯度酒精脱蜡至水,30 ml·L^{-1}过氧化氢溶液30 min以阻断内源性过氧化物酶活性。正常山羊血清封闭30 min。加入抗Ⅷ因子抗体4 ℃过夜,生物素化山羊抗兔37 ℃ 30 min,链酶亲和素-生物素-过氧化物酶复合物(SABC)37 ℃ 30 min,DAB显色,脱水透明后以中性树胶封片。切片在100倍光镜下选微血管分布最密的区域,在200倍视野下计数5个视野中被Ⅷ因子抗体染成棕黄色的血管数目,取其平均值作为微血管密度。

作者简介:姜 涛(1965-),男,吉林省长春市人,博士,主治医师,讲师,主要从事肺癌的临床及实验研究,发表论文8篇。电话:(029)35777736
收稿日期:2002-01-05;修回日期:2002-03-08

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.3 统计学处理

所有的数据均以 s 表示，各组间均数比较用 t 检验处理，两组间关系用相关性检验，以 $P<0.05$ 为差异具有显著性。

2 结果

2.1 肿瘤组织中NOS活性与肺癌病理特征的关系

正常肺组织中未检测到NOS活性。肺癌患者肿瘤组织中NOS活性与肿瘤组织学分级、淋巴结转移明显相关。肿瘤组织中NOS活性组织学Ⅱ级明显高于Ⅰ级($P<0.05$)，Ⅲ级明显高于Ⅱ级($P<0.01$)，有淋巴结转移者明显高于未转移者($P<0.01$)，结果，见表1。

2.2 肿瘤组织中MVD与肺癌病理特征的关系

正常肺组织中MVD为5.37±0.71，显著低于肺癌组织MVD($P<0.01$)。肺癌组织中MVD与肿瘤组织学分级、淋巴结转移明显相关。肿瘤组织中MVD组织学Ⅱ级明显高于Ⅰ级($P<0.01$)，Ⅲ级明显高于Ⅱ级($P<0.01$)，有淋巴结转移者明显高于未转移者($P<0.01$)，结果，见表1。

表1 肺癌组织NOS活性及微血管密度与肺癌病理特征间的关系($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Correlation of pathological characteristics of lung cancer and NOS activity and MVD in cancer tissue($\bar{x}\pm s$)

Characteristics	n	Tissue NOS(U/mgprot)	MVD
Histological Grade			
Ⅰ	3	1.2350±0.1317	26.73±1.06
Ⅱ	18	1.9537±0.4851	31.72±2.14
Ⅲ	9	2.5261±0.0936	38.39±1.99
Lymphatic metastasis			
+	25	2.2539±0.2570	34.23±3.81
−	5	1.4517±0.3156	28.18±2.14

2.3 肿瘤组织NOS活性与肿瘤血管生成之间的关系

随着肿瘤组织NOS活性的增高，微血管密度也显著增高，对二者进行相关性检验，$r=0.6381$，二者呈正相关($P<0.01$)。

3 讨论

NO是一种生物信号分子和特殊的生物活性介质，广泛参与体内一系列生理功能的调节以及一些疾病状态和功能失调的病理过程。自其发现以来，一直是各国学者研究的热点，1992年曾被Science杂志评为明星分子。但是NO与肿瘤关系的研究却起步较晚，直到近几年才逐渐引起各国学者的重视。由于肿瘤的发病是一个多因素参与的发展过程，而NO具有第二信使和神经递质的功能，在炎症和免疫等多种过程中发挥作用。目前关于NO与肿瘤关系的研究结果存在较大的争议，NO本身具有奇特的双重作用，在不同的肿瘤组织中NO究竟发挥何种作用有待进一步探索。NOS是NO合成的关键酶，由于NO的半衰期较短，往往用NOS的活性变化代表NO的含量及生物学效应。NOS分为诱导型NOS(iNOS)、内皮型NOS(eNOS)和神经型NOS(nNOS)，本研究检测的是肺癌患者肿瘤组织中NOS的总活性，并分析NOS活性变化与肺癌的组织学分级以及淋巴结转移病理特征间的关系，旨在探讨NO与肺癌恶性行为的关系。结果表明，肿瘤组织学分级高者较分级低者肿瘤组织中NOS活性明显增高，有淋巴结转移者较未转移者肿瘤组织中NOS活性明显增高。由此可见，NO可能参与了肺癌患者肿瘤的演进和发展过程，与肿瘤的恶性行为有关。

肿瘤血管生成是肿瘤赖以生长浸润及转移的基础，与临床预后密切相关。因此，肿瘤的血管系统已成为一个有希望的、新的抗肿瘤治疗靶点。近年来一些在体实验研究表明，NOS的表达在肿瘤血管形成过程中有重要作用，NO部分参与了肿瘤血管形成。本实验同时检测了肺癌患者肿瘤组织中微血管密度，结果表明，NOS活性增高者，MVD也显著增高，二者呈正相关，并随肿瘤组织学分级和淋巴结转移而显著增高，进一步提示NO对肿瘤血管生成的促进作用。NO在肿瘤发生和演进过程的作用机制目前尚不清楚。促肿瘤血管生成的主要因子有血管内皮生长因子(VEGF)、血小板源性生长因子(PDGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)等。其中VEGF是肿瘤新生血管形成的主要调控者之一，也是目前研究较多的促血管生成因子。有研究表明NO可正性调节VEGF表达，促进VEGF对血管的通透和舒张作用[3]，而VEGF亦可对NO的生成起正性调节作用[4,5]，二者之间存在正反馈关系。

根据本研究结果，肺癌患者肿瘤组织中NOS活性与肺癌的恶性程度呈正相关，由于NOS活性增高而导致的高浓度的NO可能是通过促进肿瘤血管形成而发挥作用的。因此，通过抑制NOS活性进可望为抑制肿瘤血管形成和肿瘤转移的基因治疗提供新的靶点。

参考文献：

[1] 王水良，贺智敏，陈主初. 一氧化氮在肿瘤生物学中的作用[J]. 癌变·畸变·突变，2000，12(1)：60－63.

[2] Fukumura D，Jain P K. Role of nitric oxide in angiogenesis and microcirculation in tumors[J]. Cancer Metastasis Rev，1998，17(1)：77－89.

[3] 黄 杨，梁继河，尹 文，等. NO对内毒素诱导的肺泡巨噬细胞核因子-κB活化和TNF-α的调节[J]. 第四军医大学学报，2002，23(2)：104－106.

[4] 李兵仓，刘 震，吴国萍，等. 胸部爆炸伤后血浆及肺组织中NO、TNF-a和IL-8的变化及L-NAME的作用[J]. 第三军医大学学报，2001，23(10)：1133－1135.

[5] 苗建亭，李柱一，林 宏，等. Alzheimer病形成过程中NO/NOS机制的实验研究[J]. 第四军医大学学报，2001，22(16)：1463－1465.

[6] Jozkowicz A，Cooke J P，Guevara I，*et al*. Genetic augmentation of nitric oxide synthase increases the vascular generation of VEGF[J]. Cardiovasc Res，2001，51(4)：773－783.

[7] Lal B K，Varma S，Pappas P J，*et al*. VEGF increases permeability of the endothelial cell monolayer by activation of PKB/akt，endothelial nitric-oxide synthase，and MAP kinase pathways[J]. Microvasc Res，2001，62(3)：252－262.

[8] Uhlmann S，Friedrichs U，Eichler W，*et al*. Direct measurement of vegf-induced nitric oxide production by choroidal endothelial cells[J]. Microvasc Res，2001，62(2)：179－189.

(编辑 谢义霞)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net