

文章编号:1005-6947(2007)07-0693-03

· 简要论著 ·

COX-2 和 HER-2 在结直肠癌中的表达及其意义

汪斐¹, 莫焯¹, 周世权¹, 陈森林², 宁文锋¹, 姚茂金¹, 王永俊¹, 施小六¹

(1, 中南大学湘雅二医院 消化内科, 湖南长沙 410011; 2, 湖南省肿瘤医院 病理科, 湖南长沙 410003)

摘要:为研究 COX-2 和 HER-2 在结直肠癌中的表达及其临床意义以及两者的相互关系, 笔者采用免疫组化法检测 123 例结直肠腺癌及其中的 25 例淋巴结转移灶组织、12 例远癌肠黏膜组织、15 例结直肠腺瘤性息肉组织 COX-2 和 HER-2 的表达情况。结果显示, COX-2 在远癌组织、腺瘤性息肉、腺癌中的高表达率分别为 0%, 33.3%, 81.3%, 三者差异有统计学意义 ($P < 0.001$); 腺癌中 COX-2 的高表达与 Dukes 分期、淋巴结转移和浸润层次有关; HER-2 的高表达在腺癌 (67.5%) 与腺瘤性息肉 (80.0%) 之间差异无统计学意义, 但均高于远癌肠黏膜 (33.3%) ($P < 0.05$); HER-2 的胞膜高表达与浸润层次有关; 在淋巴结转移灶中 COX-2 和 HER-2 具有相关性 ($\chi^2 = 3.949, P < 0.05, c = 0.3693$)。提示 COX-2 在正常组织、腺瘤性息肉及腺癌中的表达逐步上调; COX-2 可能是结直肠癌发生的早期事件; COX-2 的高表达及 HER-2 胞膜的高表达均与肿瘤侵袭性增高有关。

[中国普通外科杂志, 2007, 16(7): 693-695]

关键词: 结直肠肿瘤/病理学; COX-2; HER-2/c-erbB-2/neu

中图分类号: R735.3 **文献标识码:** B

环氧化酶 (COX) 是前列腺素 (PGs) 合成过程中的重要限速酶。炎症介质及癌基因的作用可诱导 COX-2 的表达上调并介导 PGs 的合成。人类表皮生长因子受体 2 (HER-2) 是一种癌基因所编码的跨膜蛋白。HER-2 与 COX-2 表达之间相关性的研究在乳腺癌, 卵巢癌, 前列腺癌等多种肿瘤中均有报道, 但在结直肠癌的研究较少且结论不一。为此, 本实验通过免疫组织化学方法检测 123 例结直肠癌中两者的表达情况并探讨它们的临床意义及两者的相互关系。

1 材料与方 法

1.1 标本来源及分组

标本来源于湖南省肿瘤医院 1999 年 4 月—2000 年 6 月手术切除的标本, 分组如下: (1) 结直肠癌组, 123 例。男 78 例, 女 45 例, 中位年龄 50 岁 (26~78 岁), 同时收集患者的临床资料, 包括 Dukes 分期、淋巴结转移情况和浸润层次等 (其中有淋巴结转移患者 40 例, 取 40 例中的 25 例阳

性灶组织进行检测)。 (2) 远癌组织组, 12 例。取自上述癌肿患者癌旁 10 cm 以外的黏膜组织, 经病理证实无肿瘤的浸润。 (3) 腺瘤性息肉组, 15 例, 男 9 例, 女 6 例, 中位年龄 49 岁 (26~70 岁)。

标本常规甲醛固定, 石蜡包埋, 切片厚 4 μm 。病理诊断经两名以上病理医师确认。

1.2 主要试剂

COX-2 鼠抗人单克隆抗体浓缩液 (Cox229, 北京中杉公司), HER-2 单克隆抗体工作液及二步法试剂盒 (小鼠, 福州迈新公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 免疫组化“二步法” 常规脱蜡、水化; 3% H_2O_2 封闭, 磷酸盐缓冲液 (PBS) 清洗, COX-2 微波修复 10 min 一抗以 1:300 稀释, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。HER-2 微波修复 15 min, 一抗以 1:200 稀释, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。第 2 天按试剂盒说明操作: 增强剂在室温下孵育 20 min; PBS 清洗后加二抗并在室温下孵育 30 min; PBS 清洗后 DAB 显色。阴性对照中的一抗用 PBS 代替, 阳性对照为预实验中结肠癌阳性片。

1.3.2 结果判定 (1) COX-2 阳性着色于胞浆和核膜, 黄色颗粒状 (图 1)。参照 Robert 的分类

收稿日期: 2007-03-06; 修订日期: 2007-07-18。

作者简介: 汪斐, 男, 湖南常德人, 中南大学湘雅二医院主治医师 (现工作于湖南省常德市第一人民医院), 主要从事消化道肿瘤的分子机制方面的研究。

通讯作者: 施小六 E-mail: shixiaoliu61766@yahoo.com.cn

方法^[1],根据细胞中 COX-2 蛋白的着色范围评分:阴性为 0,1~10% 为 1,11~50% 为 2,51~80% 为 3,81~100% 为 4。染色的强度分:阴性为 0,弱为 1,中为 2,强为 3。上两者的乘积为最后得分:0 为 (-),1~4 为 (+),5~8 为 (++) ,9~12 为 (+++) ; <5 分归为低表达组,≥5 分归为高表达组。(2) HER-2 主要着色于胞浆和胞膜,阳性着色呈黄色(图 2)。参照 Es-

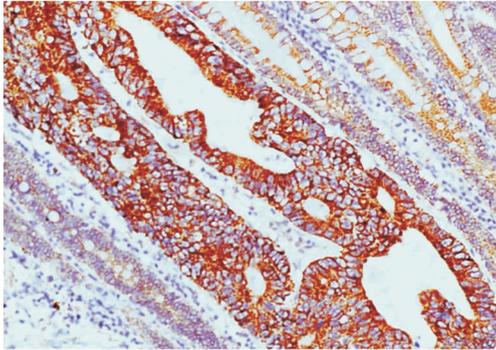


图 1 结肠中分化腺癌 COX-2 蛋白阳性表达,胞浆和核膜着色,(+++)(免疫组化染色,A × 100)

sapen^[2]的评判标准,肿瘤细胞 >10% 着色即为阳性,按着色强度分为 (+),(++),(+++),(-)和 (+) 分归为低表达组,(++) 和 (+++) 归为高表达组。

1.4 统计学处理

使用 SPSS11.0 软件。应用 χ^2 检验并计算列联系数($\alpha = 0.05$)。

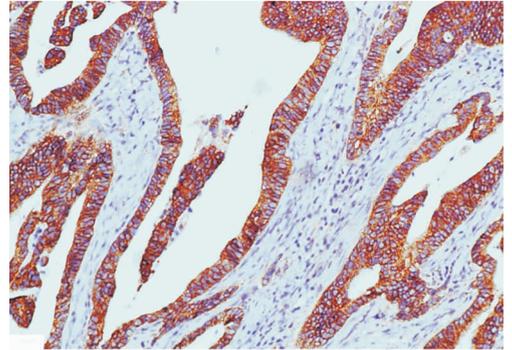


图 2 结肠中分化腺癌 HER-2 蛋白阳性表达,胞浆和胞膜着色,(+++)(免疫组化染色,A × 100)

2 结果

2.1 COX-2 和 HER-2 的表达

远癌黏膜、腺瘤性息肉及腺癌中的 COX-2 的高表达率显著差异($P < 0.001$)组间两两比较亦显著差异(表 1)。远癌黏膜、腺瘤性息肉及腺

癌中的 HER-2 的高表达率差异有统计学意义($P < 0.05$);但在腺瘤性息肉及腺癌的表达状况无统计学差异($P > 0.05$),腺瘤性息肉加腺癌组与远癌组织之间差异有统计学意义($P < 0.05$)(表 1)。

表 1 COX-2 和 HER-2 的表达

临床指标	例数	COX-2		$P(\chi^2)$	HER-2		$P(\chi^2)$
		低表达	高表达率(%)		低表达	高表达率(%)	
远癌黏膜	12	12	0(0.0)		8	4(33.3)	
腺瘤性息肉	15	10	5(33.3) ¹⁾	<0.001(45.083)	3	12(80.0) ¹⁾	0.035(6.600)
腺癌	123	23	100(81.3) ^{1),2)}		40	83(67.5) ¹⁾	

注:1)与远癌黏膜组比较, $P < 0.001$;2)与腺瘤性息肉组比较, $P < 0.05$

2.2 COX-2 的表达与临床病理特征的关系

COX-2 的高表达与 Dukes 分期、淋巴结转移及浸润层次(T 分期)有关($P = 0.03$, $P = 0.27$, $P < 0.001$),COX-2 的高表达在 Dukes C,D 期,有淋巴结转移的腺癌原发灶,深度浸润的 T3,T4 期要显著高于 Dukes 分期早期,无淋巴结转移及浸润较浅的病灶(表 2)。

2.3 HRE-2 的表达与临床病理特征的关系

HER-2 胞膜的高表达与浸润层次有关(表 2)

($P = 0.034$),深度浸润的病灶中,胞膜 HER-2 的高表达率显著高于浸润较浅的($P < 0.05$),但与其他临床指标无统计学意义(均 $P > 0.05$);胞浆的 HER-2 高表达与临床指标亦无明显关系。

2.4 COX-2 与 HER-2 的相关性

腺癌组织中 COX-2 与 HER-2 表达状况无相关性($P = 0.27$);在淋巴结转移灶组织中,两者表达状况有相关性($P < 0.05$)(表 3)。

表2 COX-2,HER-2 表达与结直肠癌临床指标的关系

临床指标	COX-2			P(χ^2)	胞膜 HER-2		P(χ^2)
	例数	低表达	高表达率(%)		低表达	高表达率(%)	
分化程度							
高	11	3	8(72.7)	0.599(1.026)	9	2(18.2)	0.352(2.087)
中	71	14	57(80.3)		42	29(40.8)	
低	41	6	35(85.4)		25	16(39.0)	
Dukes 分期							
A + B	72	18	54(75.0)	0.033(4.535)	45	27(37.5)	0.847(0.037)
C + D	51	5	46(90.2)		31	20(39.2)	
有无淋巴结转移 [†]							
无	83	20	63(74.7)	0.027(4.890)	50	33(39.8)	0.611(0.259)
有	40	3	37(92.5)		26	14(35.0)	
浸润层次							
T1 + T2	15	9	6(40.0)	<0.001(19.168)	12	3(20.0)	0.034(4.781)
T3 + T4	108	14	94(87.0)		64	44(40.8)	

注:† 是指在原发灶内的表达

表3 COX-2 与 HER-2 的相关性

HER-2	淋巴结转移灶 COX-2			P(χ^2)	HER-2	腺癌组织 COX-2			P(χ^2)
	低表达	高表达	合计			低表达	高表达	合计	
低表达	5	7	12	0.270(3.949)	低表达	7	33	40	0.047(1.215)
高表达	1	12	13		高表达	22	94	83	

注:列联系数 c = 0.3693

3 讨论

多种炎症介质、生长因子及癌基因可以激活 COX-2 的转录及其蛋白表达。本实验通过对结直肠癌的免疫组化分析,显示 COX-2 的表达在远癌黏膜组织,结直肠腺瘤性息肉以及腺癌三者中依次增高,其表达在三者之间差异有统计学意义。提示 COX-2 可能是结直肠癌发生的早期事件。此观点也为大多数学者所认可^[3-4]。本研究结果还显示 COX-2 的高表达与 Dukes 分期,淋巴结转移及浸润层次(T 分期)有关,在 Dukes 晚期、有淋巴结转移及浸润深的病灶中 COX-2 的表达率显著高于 Dukes 早期、无淋巴结转移、浸润较浅病变的表达率。这与以往的大多研究结果相一致^[4-5],提示 COX-2 可能具有促使细胞恶性转变,增强肿瘤侵袭性的作用,参与结直肠癌的进展过程。HER-2 是一种具有酪氨酸激酶活性的跨膜糖蛋白,其活化可传递增殖信号从而促进细胞增殖生长。本结果还显示,胞浆 HER-2 的高表达与患者的临床指标大多无关,而仅与与浸润层次有关;随着浸润层次的加深其表达逐渐上调。提示胞膜的 HER-2 是 HER-2 传递细胞增殖信号的主要功能形式。这与 Sharadah 及 Half 的报道一致^[2,6]。

多种癌基因可使 COX-2 的表达上调。在乳腺癌的研究报道中,HER-2 对 COX-2 的表达具有决定性作用,HER-2 阳性的乳腺癌标本其 COX-2 的表达率和表达量都有明显上升^[7]。本实验显示,

在结直肠癌原发灶中 COX-2 和 HER-2 的表达并无相关性。这与 Kim 分析 176 例结直肠癌的组织芯片后所得结果一致^[8]。但在结直肠癌淋巴结转移灶中,显示 HER-2 高表达与 COX-2 的高表达具有相关性。提示 COX-2 的高表达及 HER-2 胞膜的高表达均与肿瘤侵袭性增高有关。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] Essapen S, Thomas H, Green M, *et al.* The expression and prognostic significance of HER-2 in colorectal cancer and its relationship with clinicopathological parameters [J]. *Int J Oncol*, 2004, 24(2):241-248.
- [3] 任先达,吕艳青,叶开和,等.非甾体类抗炎药抗肿瘤作用的分子机制 [J]. *中国药理学通报*, 2005, 21(5):527-531.
- [4] Sheehan KM, Sheahan K, Odonoghue DP, *et al.* The relationship between cyclooxygenase-2 expression and colorectal cancer [J]. *JAMA*, 1999, 282(13):1254-1257.
- [5] 童强,王国斌,卢晓明,等.胃癌组织中核因子- κ B, ICAM-1 和 COX-2 的表达及其临床意义 [J]. *中国普通外科杂志*, 2005, 14(10):736-739.
- [6] Half E, Broaddus R, Danenberg KD, *et al.* HER-2 receptor expression, localization, and activation in colorectal cancer cell lines and human tumors [J]. *Int J Cancer*, 2004, 10, 108(4):540-548.
- [7] Lanza-Jacoby S, Burd R. Effect of simultaneous inhibition of epidermal growth factor receptor and cyclooxygenase-2 in HER-2/neu-positive breast cancer. [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(20 Pt 1):6161-6169.
- [8] Kim JY, Lim SJ, Park K. Cyclooxygenase-2 and c-erbB-2 expression in colorectal carcinoma assessed using tissue microarrays [J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2004, 12(1):67-70.