

文章编号:1005-6947(2005)10-0736-04

· 实验研究 ·

# 胃癌组织中核因子- $\kappa$ B, ICAM-1 和 COX-2 的表达及其临床意义

童强, 王国斌, 卢晓明, 肖勇, 舒晓钢, 陶凯雄, 陈道达

(华中科技大学同济医学院附属协和医院 普通外科, 湖北 武汉 430022)

**摘要:**目的 探讨核因子- $\kappa$ B, ICAM-1 和 COX-2 的表达在胃癌发生、转移中的作用及其临床意义。方法 采用免疫组化 SP 法检测 142 例胃癌中核因子- $\kappa$ B, ICAM-1 和 COX-2 蛋白的表达情况, 以相应癌旁组织(30 例)作对照。结果 核因子- $\kappa$ B 在胃癌组织的阳性表达率为 62.0%, 显著高于对照组( $P < 0.01$ ); 其表达与淋巴结转移、组织学类型和远处转移的临床病理指标有明显关系( $P < 0.05$ )。ICAM-1 和 COX-2 在胃癌组织中阳性表达率分别为 72.5% 和 64.1%, 均显著高于对照组, 差异有极显著性( $P < 0.01$ ), 且其在淋巴结是否转移的两组之间差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。核因子- $\kappa$ B 与 ICAM-1, COX-2 的表达呈显著正相关( $r_s = 0.477, P < 0.01$ ;  $r_s = 0.380, P < 0.01$ )。结论 核因子- $\kappa$ B 通过对 ICAM-1 和 COX-2 的转录调控, 在胃癌的发生、转移过程中发挥重要作用, 可能成为胃癌治疗的一个新靶点。

**关键词:** 胃肿瘤/病理学; 核因子- $\kappa$ B; 环氧化酶-2; 细胞间黏附分子-1

中图分类号: R735.7 文献标识码: A

## Expression of NF- $\kappa$ B, ICAM-1 and COX-2 in gastric carcinoma and their clinical significance

TONG Qiang, WANG Guo-bin, LU Xiao-ming, XIAO Yong, SHU Xiao-gang,  
TAO Kai-xiong, CHEN Dao-da

(Department of General Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China)

**Abstract: Objective** To explore the effect and clinical significance of expression of nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), ICAM-1 and COX-2 on the occurrence and metastasis of gastric carcinoma. **Methods** The expression of NF- $\kappa$ B, ICAM-1 and COX-2 in 142 patients with gastric carcinoma was examined by immunohistochemical SP technique. The adjacent gastric tissue (30 cases) served as a control group. **Results**

The expression of NF- $\kappa$ B was 62.0% in gastric carcinoma tissue, much higher than that of the control group ( $P < 0.01$ ). The positive rate of NF- $\kappa$ B was significantly related to local lymph node metastasis, histological differentiation grade and distant metastasis ( $P < 0.05$ ). The expressions of ICAM-1 (72.5%) and COX-2 (64.1%) in gastric carcinoma were higher than those in the control group ( $P < 0.01$ ) and were both closely related to local lymph node metastasis ( $P < 0.01$ ). NF- $\kappa$ B expression positively correlated with ICAM-1 ( $r_s = 0.477, P < 0.01$ ) and COX-2 ( $r_s = 0.380, P < 0.01$ ). **Conclusions**

The control of transcription of ICAM-1 and COX-2, NF- $\kappa$ B plays an important action in the occurrence and metastasis of gastric carcinoma. It could become a new target of treatment of gastric carcinoma.

**Key words:** Stomach Neoplasms/pathol; NF- $\kappa$ B; COX-2; ICAM-1

**CLC number:** R735.7 **Document code:** A

**基金项目:** 国家 863 计划基金资助(2001AA218051)。

**收稿日期:** 2005-06-07; **修订日期:** 2005-09-18。

**作者简介:** 童强(1978-), 男, 湖北黄冈人, 华中科技大学同济医学院附属协和医院主治医师, 主要从事胃肠外科及腹腔镜外科方面的研究。

**通讯作者:** 童强 电话: 13986274434 (手机); E-mail: surgerytong@yahoo.com.cn。

核因子- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 是调节细胞基因转录的关键因子,参与多种相关基因转录调控,在肿瘤的发展过程中发挥重要作用<sup>[1,2]</sup>。本研究通过免疫组织化学方法,测定胃癌组织中 NF- $\kappa$ B, 细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecules-1, ICAM-1) 和环氧化酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 的表达,探讨三者胃癌发生、转移中的作用及其临床意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 标本及一般资料

142 例胃癌标本取自 2002 ~ 2004 年本院普外科手术切除标本。术前均未接受非甾体类消炎药治疗及放疗化疗。其中男 98 例,女 44 例;年龄 29 ~ 82 岁,中位年龄 59.3 岁。高中分化腺癌 114 例,低分化腺癌 28 例。取距癌组织边缘 5cm 外的正常组织 30 例为对照。两组标本均经病理证实。

### 1.2 方法

1.2.1 免疫组化染色 NF- $\kappa$ Bp65 鼠单克隆抗体、鼠抗人 ICAM-1 单克隆抗体和多克隆羊抗 COX-2 抗体均购自北京中山生物技术公司。SP 免疫组化试剂盒购自福州迈新生物技术公司。全部标本用 4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋,4 $\mu$ m 连续切片,SP 法按说明操作。PBS 代替一抗为阴性对照,已知阳性片为阳性对照。

1.2.2 结果判定标准 NF- $\kappa$ Bp65 蛋白染色阳性信号颗粒呈棕黄色,位于胞浆和/或胞核。高倍镜下( $\times 400$ )每张片随机选 5 个视野,计数 200 个细胞/视野。染色强度与背景无明显差别为(-),阳性细胞数 < 30% 为(+),30% ~ 60% 为(++),> 60% 为(+++)。ICAM-1 主要位于胞膜,但胞浆中也可有染色;染色以阳性细胞数 < 5% 为(-),阳性细胞数 < 30% 为(+),30% ~ 50% 为(++),> 50% 为(+++)。COX-2 蛋白均以胞核或胞浆有棕黄色颗粒为阳性;染色以无明显阳性细胞为(-),阳性细胞数 < 30% 为(+),30% ~ 50% 为(++),> 50% 为(+++)。

1.2.3 统计学处理 采用 SPSS 12.0 统计软件包进行处理。定性资料用卡方检验,等级相关用 Spearman 等级相关分析。

## 2 结果

### 2.1 NF- $\kappa$ B 的表达

NF- $\kappa$ B 在胃癌中的阳性表达率为 62.0% (88/142);其中 27 例(+),34 例(++),27 例(+++);对照组 30 例正常组织中 2 例阳性。多数阳性信号同时出现于胞浆和胞核中。胃癌组的 NF- $\kappa$ B 蛋白的阳性表达率显著高于对照组( $P < 0.01$ )。NF- $\kappa$ B 蛋白表达与性别、肿瘤大小、肿瘤部位和胃癌分期均无明显关系( $P > 0.05$ )。胃癌组织中 NF- $\kappa$ B 蛋白表达分别在淋巴结转移、组织学类型和远处转移的组间差异有显著性( $P < 0.05$ )(表 1)。

### 2.2 ICAM-1 蛋白的表达

ICAM-1 蛋白在胃癌组织中阳性率为 72.5% (103/142);其中 32 例(+),35 例(++),36 例(+++)。30 例正常组织均无表达。胃癌组 ICAM-1 阳性表达率显著高于对照组( $P < 0.01$ )。ICAM-1 多见于胞膜,胞浆中也可有染色。ICAM-1 表达与性别、肿瘤大小、部位、组织学类型及胃癌分期均无明显关系( $P > 0.05$ )。ICAM-1 在淋巴结转移组阳性率明显高于无转移组( $P < 0.01$ )(表 1)。

### 2.3 COX-2 蛋白的表达

COX-2 蛋白在胃癌组织中阳性率为 64.1% (91/142);其中,27 例(+),30 例(++),34 例(+++)。30 例正常组织中 2 例阳性。胃癌组 COX-2 阳性表达率显著高于对照组( $P < 0.01$ )。COX-2 主要表达于肿瘤细胞胞质和核膜。COX-2 表达与患者性别、肿瘤大小、部位、组织学类型及胃癌分期均无明显关系( $P > 0.05$ )。COX-2 在淋巴结转移组阳性率明显高于无转移组( $P < 0.01$ )(表 1)。

### 2.4 胃癌中 NF- $\kappa$ B 与 ICAM-1 表达的关系

胃癌中 NF- $\kappa$ B 蛋白表达与 ICAM-1 表达呈显著正相关( $r_s = 0.477, P < 0.01$ )(表 2)。

### 2.5 胃癌中 NF- $\kappa$ B 与 COX-2 表达的关系

胃癌中 NF- $\kappa$ B 蛋白表达与 COX-2 表达呈显著正相关( $r_s = 0.380, P < 0.01$ )(表 3)。

表1 NF- $\kappa$ B, ICAM-1 和 COX-2 与胃癌临床参数的关系(例)

临床参数	NF- $\kappa$ B 表达			ICAM-1 表达			COX-2 表达		
	阳性	阴性	P 值	阳性	阴性	P 值	阳性	阴性	P 值
性别									
男	64	34	0.222 > 0.05	70	28	0.659 > 0.05	60	38	0.289 > 0.05
女	24	20		33	11		31	13	
年龄(岁)									
<60	70	38	0.214 > 0.05	78	30	0.882 > 0.05	71	37	0.463 > 0.05
$\geq$ 60	18	16		25	9		20	14	
肿瘤大小(cm)									
$\geq$ 5	37	25	0.620 > 0.05	42	20	0.260 > 0.05	39	23	0.796 > 0.05
<5	51	29		61	19		52	28	
肿瘤位置									
贲门	21	9	0.356 > 0.05	25	5	0.072 > 0.05	22	8	0.465 > 0.05
胃体	19	9		23	5		18	10	
胃窦	48	36		55	29		51	33	
胃癌分期									
早期	30	12	0.132 > 0.05	35	7	0.062 > 0.05	30	12	0.237 > 0.05
中晚期	58	42		68	32		61	39	
组织类型									
高中分化	65	49	0.014 < 0.05	82	32	0.744 > 0.05	77	37	0.083 > 0.05
低分化	23	5		21	7		14	14	
淋巴结转移									
有	48	20	0.043 < 0.05	62	6	0.000 < 0.01	51	17	0.009 < 0.01
无	40	34		41	33		40	4	
远处转移									
有	23	5	0.049 < 0.05	20	8	0.342 > 0.05	16	12	0.129 > 0.05
无	65	39		83	21		75	29	

表2 胃癌组织 NF- $\kappa$ B 与 ICAM-1 表达的关系

NF- $\kappa$ B 表达	ICAM-1 表达			
	(-)	(+)	(++)	(+++)
(-)	26	15	8	5
(+)	7	8	5	7
(++)	4	6	13	11
(+++)	2	3	9	13

表3 胃癌组织 NF- $\kappa$ B 与 COX-2 表达的关系

NF- $\kappa$ B 表达	COX-2 表达			
	(-)	(+)	(++)	(+++)
(-)	28	14	7	5
(+)	10	6	4	7
(++)	7	5	12	10
(+++)	6	2	7	12

### 3 讨论

NF- $\kappa$ B 是一种多向调节功能的转录因子,广泛参与许多基因的转录调控。近年发现,NF- $\kappa$ B 活性的失控与部分肿瘤密切相关<sup>[3,4]</sup>。有证据<sup>[1,5]</sup>表明,NF- $\kappa$ B 的持续活化可作为包括乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、胰腺癌、前列腺癌以及黑色素瘤等多

种实体肿瘤的标志。通常情况下,其以非活性形式存在于胞浆,只有被激活后才从胞浆转位于胞核而发挥功能。当 NF- $\kappa$ B 不恰当地被激活,定位于胞核而不能返回胞浆时,其功能可异常增高,进而改变细胞正常的信号转导,促进细胞癌变。本研究结果发现,NF- $\kappa$ B 在胃癌中表达阳性率 62.0%,且多数阳性信号同时出现于胞浆和胞核中,表明 NF- $\kappa$ B 活化与胃癌的形成密切相关;推测为 NF- $\kappa$ B 活化后进入核内启动相关癌基因的转录,导致肿瘤的发生。正常组织中可出现 NF- $\kappa$ B 微弱表达,可能反映 NF- $\kappa$ B 处于不断激活和失活的有序调控中,是细胞调节正常生理功能、维持生死平衡所必需。NF- $\kappa$ B 表达与组织学类型、淋巴结转移及远处转移有关( $P < 0.05$ )。提示 NF- $\kappa$ B 的功能异常不仅可介导胃癌的发生,还可能对胃癌侵袭生长和转移进程施加影响。

ICAM-1 是一种分子质量为 80 ~ 110 kD 的跨膜蛋白,属免疫球蛋白超家族成员。最近有研究<sup>[6,7]</sup>表明,ICAM-1 在一些恶性肿瘤中过度表达,如肝癌、乳腺癌、结肠直肠癌、黑色素瘤、霍奇金病、胃癌、肺癌等。COX 是花生四烯酸代谢的关键限速

酶,目前已发现至少有2种亚型:结构型 COX-1 和诱生型 COX-2。正常状态下 COX-2 活性很低,COX-2 过度表达与消化系肿瘤发生、发展密切相关。COX-2 能够促进细胞黏附,抑制细胞凋亡的发生,诱导肿瘤新生血管的形成,促进肿瘤侵袭和转移<sup>[8,9]</sup>。Chen 等<sup>[10]</sup>对4种结肠癌细胞株的研究发现,浸润能力最强的 HT-29/Inv3 细胞株 COX-2 表达最强,而 COX-2 抑制剂 etodolac 可显著抑制其浸润能力,从而证实了 COX-2 能提高结肠癌细胞的浸润转移潜能,促进结肠癌的恶性发展。本研究显示,COX-2 表达在淋巴结是否转移的两组之间差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。由于淋巴结转移是影响预后的独立因素,因此,COX-2 表达增高,常提示预后较差。本资料表明 COX-2 表达与组织分化类型无关,这与 Ohno<sup>[11]</sup>报道一致。

同样,ICAM-1 表达在胃癌淋巴结是否转移的两组之间差异也有统计学意义( $P < 0.01$ )。由于淋巴结转移是影响预后的独立因素,因此,ICAM-1 表达增高,常提示预后较差。癌细胞内活化的 NF- $\kappa$ B 可诱导白细胞介素6(IL-6)和尿激酶纤溶酶原激活物调控其周围的成纤维母细胞基质产生血管生成因子(VEGF)和细胞外基质降解酶,促进肿瘤细胞的浸润和转移<sup>[12]</sup>。当肿瘤细胞发生浸润、转移时,淋巴细胞和白细胞分泌如 IL-1 及肿瘤坏死因子(TNF)等细胞因子杀灭癌细胞,同时也激活了淋巴管、血管内皮细胞内的 NF- $\kappa$ B,而内皮细胞存在 NF- $\kappa$ B 激活 ICAM-1 启动子的部位,NF- $\kappa$ B 的过度活化可使内皮细胞 ICAM-1 活化增加,进入血液或淋巴结的癌细胞与淋巴细胞竞争性地与内皮细胞结合<sup>[13]</sup>,使癌细胞能在淋巴结或其他脏器中黏附、生长、增殖。因此 NF- $\kappa$ B 通过对 ICAM-1 的调控,在胃癌的转移中起到促进作用。本实验支持以上理论,本实验结果可见,NF- $\kappa$ B 和 ICAM-1 的表达与胃癌的转移呈显著正相关,胃癌中 NF- $\kappa$ B 蛋白与 COX-2 蛋白表达间也存在显著的正相关。推测 NF- $\kappa$ B 能调控且能促进 COX-2 的表达,但具体机制尚需进一步探讨。有其他实验<sup>[14]</sup>证实,针对 COX-2 的抗肿瘤非甾体类抗炎药有一重要机制是抑制 NF- $\kappa$ B 因子。COX-2 基因的 5' 端 flanking 区域有 2 处 NF- $\kappa$ B 的结合位点。Lim 等<sup>[15]</sup>发现 NF- $\kappa$ B p50 亚基的反义寡脱氧核苷酸能抑制 NF- $\kappa$ B 的活性和 COX-2 的表达。显示 NF- $\kappa$ B 与 COX-2 有相关性,同本研究 NF- $\kappa$ B 与 COX-2 有关联相符合。因而可得出如下结论:核因子- $\kappa$ B 通

过对 ICAM-1 和 COX-2 的转录调控在胃癌发生、转移过程中发挥重要作用,它可能成为胃癌治疗的一个新靶点。

#### 参考文献:

- [1] Loercher A, Lee TL, Ricker JL, *et al.* Nuclear factor-kappaB is an important modulator of the altered gene expression profile and malignant phenotype in squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(18):6511-6523.
- [2] Yu HG, Yu LL, Yang Y, *et al.* Increased expression of RelA/nuclear factor-kappa B protein correlates with colorectal tumorigenesis [J]. *Oncology*, 2003, 65(1):37-45.
- [3] Read MA, Whitley MZ, Williams AJ, *et al.* NF-kappa B and I kappa B alpha: an inducible regulatory system in endothelial activation [J]. *J Exp Med*, 1994, 179(2):503-512.
- [4] 涂刚,姚榛祥,董蒲江. 核因子  $\kappa$ B 在人乳腺癌组织中的表达及其意义 [J]. *中国普通外科杂志*, 2003, 12(5):351-353.
- [5] Dejardin E, Deregowski V, Chapelier M, *et al.* Regulation of NF-kappaB activity by I kappaB-related proteins in adenocarcinoma cells [J]. *Oncogene*, 1999, 18(16):2567-2577.
- [6] Shirai A, Furukawa M, Yoshizaki T. Expression of intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 in adenoid cystic carcinoma of the head and neck [J]. *Laryngoscope*, 2003, 113(11):1955-1960.
- [7] Maruo Y, Gochi A, Kaihara A, *et al.* ICAM-1 expression and the soluble ICAM-1 level for evaluating the metastatic potential of gastric cancer [J]. *Int J Cancer*, 2002, 100(4):486-490.
- [8] Ali-Fehmi R, Morris RT, Bandyopadhyay S, *et al.* Expression of cyclooxygenase-2 in advanced stage ovarian serous carcinoma: correlation with tumor cell proliferation, apoptosis, angiogenesis, and survival [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2005, 192(3):819-825.
- [9] Tatsuguchi A, Matsui K, Shinji Y, *et al.* Cyclooxygenase-2 expression correlates with angiogenesis and apoptosis in gastric cancer tissue [J]. *Hum Pathol*, 2004, 35(4):488-495.
- [10] Chen WS, Wei SJ, Liu JM, *et al.* Tumor invasiveness and liver metastasis of colon cancer cells correlated with cyclooxygenase-2 (COX-2) expression and inhibited by a COX-2-selective inhibitor, etodolac [J]. *Int J Cancer*, 2001, 91(6):894-899.
- [11] Ohno R, Yoshinaga K, Fujita T, *et al.* Depth of invasion parallels increased cyclooxygenase-2 levels in patients with gastric carcinoma [J]. *Cancer*. 2001, 91(10):1876-1881.
- [12] Bhat-Nakshatri P, Newton TR, Goulet R Jr, *et al.* NF-kappaB activation and interleukin 6 production in fibroblasts by estrogen receptor-negative breast cancer cell-derived interleukin 1 alpha [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(12):6971-6976.
- [13] Witkowska AM, Borawska MH. Soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1): an overview [J]. *Eur Cytokine Netw*, 2004, 15(2):91-98.
- [14] Appleby SB, Ristimaki A, Neilson K, *et al.* Structure of the human cyclo-oxygenase-2 gene [J]. *Biochem J*, 1994, 302(Pt 3):723-727.
- [15] Lim JW, Kim H, Kim KH. Nuclear factor-kappaB regulates cyclooxygenase-2 expression and cell proliferation in human gastric cancer cells [J]. *Lab Invest*, 2001, 81(3):349-360.