·肺癌流行病学·

DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2002.02.08

女性肺腺癌环氧化酶-2 表达的研究

关鹏　何钦成　周宝森

【摘要】 目的　探讨女性肺腺癌组织中 COX-2 的表达情况及其与患者临床病理生理特征之间的关系。方法　应用免疫组织化学 S-P 法,对肺腺癌组织与癌旁组织各 50 例进行 COX-2 蛋白表达检测。结果　肺腺癌癌组织中 COX-2 蛋白阳性表达率为 78%,显著高于癌旁组织中的 26%($\chi^2 = 27.08$, $P < 0.01$)。COX-2 阳性表达率与女性肺腺癌患者年龄($P = 0.50$)、吸烟史($P = 1.0$)、细胞分化程度($P = 0.712$)、TNM 分期($P = 0.591$)、原发肿瘤大小($P = 0.63$)和淋巴结转移($P = 0.88$)均无明显关系。结论　COX-2 过度表达可能在女性肺腺癌的发生中有重要意义。

【关键词】 女性肺腺癌　　环氧化酶-2

【中图分类号】 R18

Cyclooxygenase-2 expression in female pulmonary adenocarcinoma

GUAN Peng, HE Qincheng, ZHOU Baosen. Department of Epidemiology, China Medical University, Shenyang, Liaoning 110001, *P. R. China*

【**Abstract**】 **Objective**　To explore the relationship between the expression of COX-2 and pathophysiological features in female pulmonary adenocarcinoma patients. **Methods**　Expression of COX-2 protein was detected in 50 cases of female pulmonary adenocarcinoma tissues and 50 cases of paracancerous tissues by streptavidin-biotin immunoperoxidase method. **Results**　The positive rates of COX-2 expression were 78% and 26% in tumor tissues and paracancerous tissues respectively, and there was a highly significant difference between the two groups ($\chi^2 = 27.08$, $P < 0.01$). No significant difference was found among COX-2 expression level, age ($P = 0.50$), smoking history ($P = 1.0$), differentiation grade of tumor cells ($P = 0.712$), TNM stage ($P = 0.591$), size of primary tumor ($P = 0.63$) and lymph nodes metastasis ($P = 0.88$). **Conclusion**　Overexpression of COX-2 may play an important role in oncogenesis of female lung adenocarcinoma.

【**Key words**】 Female pulmonary adenocarcinoma　　Cyclooxygenase-2

This work was supported by a grant from China Medical Board (to HE Qincheng) (No.00726).

肺癌因其发现晚、转移早、病死率高和生存率低,严重危害人民的生命和健康。近 30 年来,中国肺癌发病率一直呈上升趋势,在某些城市肺癌已成为恶性肿瘤的第一位死因[1]。先前的研究结果表明:吸烟与肺鳞癌、小细胞癌有关,但与肺腺癌未见明显关系[2,3]。肺腺癌的发病因素目前仍不清楚,而在中国女性肺癌中,腺癌是其主要类型,约占 55%[4]。因此,探讨肺腺癌发生的分子机制是开展病因预防和临床治疗的重要基础,有着极其重要的理论价值和实际意义。

多数研究表明,环氧化酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)在腺癌中的表达显著高于其他病理类型,而非类固醇类抗炎药对 COX-2 有抑制作用。已有许多研究报道应用非类固醇类抗炎药能降低 COX-2 的表达,诱导细胞凋亡,抑制恶性肿瘤的发生与发展[5~9]。但是,COX-2 在肺腺癌中表达程度如何;能否被非类固醇类抗炎药抑制;如被抑制,通过何种分子途径产生作用,目前尚不清楚。若能明确 COX-2 在腺癌发生中的作用和机制,则有可能使非类固醇类抗炎药应用于临床肿瘤的化学预防和治疗。本研究检测了 50 例女性肺腺癌患者癌组织中 COX-2 的表达情况,以期探讨 COX-2 在肺腺癌中发生、发展的作用。

1　材料与方法

1.1　标本　女性肺腺癌组织及其癌旁组织各 50 例于 1997 年 1 月至 2000 年 12 月取自中国医科大学附属一院、二院和辽宁省肿瘤医院病理科。全组患者年龄为 31 ~ 70 岁,平均 55 岁。所有标本均为术后新鲜标本,每例患者取肿瘤组织和远离肿瘤的正常肺组织各一块,大小约为 1 cm × 1 cm × 1 cm,均经病理学证实。组织学类型按 WHO 标准分类,组织病理学分级和 p-TNM 分期按国际抗癌联盟标准。标本取材后用 10% 中性

本研究受美国纽约中华医学基金会(00726)资助

作者单位:110001　沈阳,中国医科大学流行病学教研室

中国肺癌杂志
www.lungca.org

福尔马林固定，石蜡包埋，制成 3 μm 切片，涂片按常规方法制备。

1.2　试剂　COX-2 抗体（SC-1745）购自美国 Santa Cruz 公司，S-P 试剂盒和 DAB 底物试剂盒购自北京中山生物技术有限公司。

1.3　实验方法

1.3.1　HE 切片染色步骤　石蜡标本切成 3 μm 的切片，80℃烤片 30 min。二甲苯脱蜡，经梯度酒精至水，苏木素染细胞核，清洗，盐酸酒精分化，反蓝，伊红染细胞浆，梯度酒精脱伊红，二甲苯透明，中性树胶封片。

1.3.2　免疫组织化学染色方法　采用链菌素亲生物素—过氧化酶免疫组化方法（简称 S-P 法）。步骤如下：石蜡切片恒温培养箱内加热 1 h，常规二甲苯脱蜡（二甲苯 10 min，2 次），梯度酒精水化（无水酒精 5 min，2 次；95%酒精 5 min），PBS 缓冲液冲洗 5 min，3 次，置于湿盒内，3% H_2O_2 20 min 以去除内源性过氧化物酶活性，PBS 缓冲液冲洗 5 min，3 次，10%山羊血清 20 min，加入一抗（COX-2 抗体，SC-1745），一抗工作浓度为 1∶500，4℃过夜，PBS 缓冲液冲洗 5 min，3 次，生物素标记二抗 45 min，PBS 缓冲液冲洗 5 min，3 次，辣根酶标记链霉卵白素工作液 40 min，PBS 缓冲液冲洗 5 min，3 次，DAB 显色 1～3 min，自来水充分冲洗终止显色反应，苏木素复染（1 min），1%酸酒浸润一次、脱水、透明、封固（中性树胶）。对照：以 PBS 置换一抗做空白对照，用已知结肠癌阳性病例标本作阳性对照。

1.3.3　判断标准　以胞浆呈清晰棕色为阳性表达（图 1），细胞浆无棕色或与背景着色一致为阴性。

1.4　统计学处理　资料处理用 Epi Info 6.0 建立数据文件，采用两样本率的比较的 χ^2 检验，以 $P<0.05$ 作为差别有显著意义的检验标准。

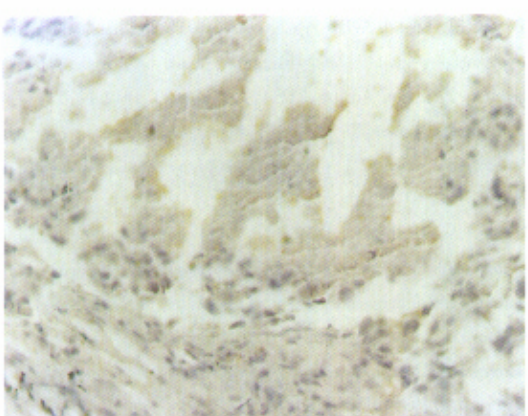

图 1　肺腺癌 COX-2 阳性表达（S-P 法 ×200）

Tab 1　The positive stain of COX-2 in pulmonary adenocarcinoma（S-P method ×200）

2　结果

2.1　肺腺癌组织与癌旁组织间 COX-2 表达水平的比较　肺腺癌组织中 COX-2 的阳性表达率为 78%（39/50），癌旁组织为 26%（13/50）（$\chi^2=27.08$，$P<0.01$）。

2.2　COX-2 阳性表达率与女性肺腺癌患者临床病理生理特征的关系　由表 1 可见，COX-2 表达水平与女性肺腺癌患者年龄、吸烟史、细胞分化程度、TNM 分期、原发肿瘤大小和淋巴结转移状态均无明显关系。

3　讨论

环氧化酶 COX 有两种同功酶，COX-2 属膜整合蛋白，在酶学上与 COX-1 功能相同，是限速酶，能催化花生四烯酸形成前列腺素 H_2。正常情况下 COX-1 恒定表达，而 COX-2 的量及表达变化很大，许多因素如细胞分裂素、生长因子、肿瘤促进因子等均对其有调节作用。许多研究表明在肿瘤细胞的增殖和转移过程中，均与前列腺素合成有关，故抑制前列腺素的合成，就有可能阻断肿瘤的发生[10～12]。以阿司匹林为代表的非类固醇类抗炎药使肿瘤发生风险降低的研究结果验证了上述这种假设，证明该药可特异地抑制 COX-1 的 Ser-530 和 COX-2 的 Ser-516 的残端[13,14]，从而阻断该酶的催化作用。

我们应用免疫组织化学方法检测 50 例女性肺腺癌组织及癌旁组织中 COX-2 的表达情况，发现癌组织中 COX-2 的表达水平明显高于癌旁组织，但 COX-2 的表达水平与肺腺癌细胞分化程度、原发肿瘤大小、浸润深度和淋巴结转移均无明显关系。这提示 COX-2 的表达增加可能发生在细胞癌变的早期阶段，在肺腺癌中具有普遍意义，与肺腺癌的发生、发展密切相关。有研究报道 COX-2 的表达与肺腺癌的侵袭性、淋巴结转移以及肺癌的分化程度有密切关系，而本研究在女性肺腺癌中未得出这种结论，可能与肺癌在男性与女性之间的差异有关。

肺癌的远期生存率很不理想，因而鉴定直接与预后相关的遗传学标志物对确定患者的预后有重要意义。有研究发现 COX-2 表达增加与肺腺癌手术后患者生存期缩短有明显关系，这对监测肺腺癌患者的预后有重要的临床意义[15]。我们将对病例进行随访以观察 COX-2 与预后的关系。

本研究发现，COX-2 基因表达水平在女性肺腺癌中明显升高，但其具体机制尚不清楚，需进一步探讨，同时应寻找更好的 COX-2 选择性抑制剂，为肺腺癌的预防和治疗开辟新的途径。

中国肺癌杂志
www.lungca.org

表 1　COX-2 阳性表达率与女性肺腺癌患者临床病理生理特征的关系

Tab 1　Relationship between positive COX-2 expression and the clinicopathological characteristics of female pulmonary adenocarcinoma

Characteristics	*n*	COX-2 expression		χ^2 value	*P* value
		Positive	Negative		
Age (years)					0.50
≤60	31	23	8		
>60	19	16	3		
Smoking history					1.0
No	48	37	11		
Yes	2	2	0		
Differentiation grade				0.68	0.712
Well	18	15	3		
Moderate	22	17	5		
Poor	10	7	3		
p-TNM stage				1.05	0.591
Ⅰ	6	5	1		
Ⅱ	25	18	7		
Ⅲ	19	16	3		
Size of primary tumor					0.63
T1	4	3	1		
T2	25	18	7		
T3	18	15	3		
T4	3	3	0		
Lymph nodes metastasis					0.88
N0	22	19	3		
N1	5	3	2		
N2	23	17	6		

参 考 文 献

1 Du YX, Cha Q, Chen XW, et al. An epidemiological study of risk factors for lung cancer in Guangzhou, China. Lung Cancer, 1996, 14 (Suppl 1): S9-S37.

2 周宝森,刘可立,何安光,等.吸烟对肺癌的危险度及人群归因危险度的研究.中国医科大学学报,1996,25(1):28.

3 Wang TJ, Zhou BS, Shi JP. Lung cancer in nonsmoking Chinese women a case-control study. Lung Cancer, 1996, 14 (Suppl 1): S93-S98.

4 Kabat GC, Stellman SD, Wynder EL. Relation Between exposure to environmental tobacco smoke and lung cancer in lifetime nonsmokers. Am J Epidemiol, 1995, 142 (2): 141-148.

5 Lim HY, Joo HJ, Choi JH, et al. Increased expression of cyclooxygenase-2 protein in human gastric carcinoma. Clin Cancer Res, 2000, 6 (2): 519-525.

6 Okami J, Yamamoto H, Fujiwara Y, et al. Overexpression of Cyclooxygenase-2 in Carcinoma of the Pancreas. Clin Cancer Res, 1999, 5 (8): 2018-2024.

7 Masferrer JL, Zweifel BS, Manning PT, et al. Selective inhibition of inducible cyclooxygenase 2 in *vivo* is antiinflammatory and nonulcerogenic. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91 (8): 3228-3232.

8 Dennis JA. Colon cancer prevention by NSAIDs: What is the mechanism of action? Eur J Surg, 1998, 582 (Suppl): 111-114.

9 DuBois RN, Shao J, Tsujii M, et al. G1 Delay in cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase-2. Cancer Res, 1996, 56 (4): 733-737.

10 Samet JM, Fasano MB, Fonteh AN. Selective induction of prostaglandin G/H synthase Ⅰ by stem cell factor and dexamethasone in mast cells. J Biol Chem, 1995, 270 (14): 8044-8049.

11 Murakami M, Matsumoto R, Urade Y. C-kit ligand mediates increased expression of cytosolic phospholipase A2, prostaglandin endoperoxide synthase-1, and hematopoietic prostaglandin D2 synthase and incresed IgE-dependent prostaglandin D2 generation in immature mouse mast cells. J Biol Chem, 1995, 270 (7): 3239-3246.

12 Dewitt DL, Smith WL. Primary structure of prostaglandin G/H synthase from sheep vesicular gland determined from the complementary DNA sequence. Proc Natl Acad Sci USA, 1988, 85 (5): 1412-1416.

13 Lecomte M, Laneuville O, Ji C. Acetylation of human prostaglandin endoperoxide synthas -2 (cyclooxygenase-2) by aspirin. J Biol Chem, 1994, 269 (18): 13207-13215.

14 Meade EA, Smith WL, DeWitt DL. Differential inhibition of prostaglandin endoperoxide sythnase (cyclooxygenase) isozymes by aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs. J Biol Chem, 1993, 268 (9): 6610-6614.

15 Achiwa H, Yatabe Y, Hida T, et al. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase 2 expression in primary, resected lung adenocarcinoma. Clin Cancer Res, 1999, 5 (5): 1001-1005.

中国肺癌杂志
www.lungca.org

(收稿:2001-12-24　修回:2002-03-19)
(本文编辑　李蓓兰)