

文章编号: 1004-616X(2003)03-0147-03

COX-2 在胃癌组织中的表达及与 Hp 感染的关系探讨^①

杨 蕾¹, 高 歌², 赵建军³, 盛传伦²

(1. 吉林大学中日联谊医院镜检科; 2. 吉林大学中日联谊医院消化内科; 3. 吉林大学中日联谊医院呼吸内科, 吉林 长春 130031)

【摘要】目的: 研究环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)在胃癌组织中的表达及与幽门螺旋杆菌(Helicobacter pylori, Hp)感染的关系, 为寻找有效的胃癌预防措施提供理论依据。方法: 用免疫组织化学法检测 35 例胃癌、18 例胃的不典型增生及 15 例慢性浅表性胃炎组织中 COX-2 蛋白表达; 用快速尿素酶法检测上述组织的 Hp 感染情况。结果: 胃癌、胃的不典型增生及慢性浅表性胃炎组织 COX-2 表达的阳性率分别为 85.71%、72.22% 和 6.67%。共有 35 例 COX-2 阳性的胃组织 Hp 感染阳性。结论: COX-2 可能参与胃癌的早期形成, Hp 感染可能是其过度表达的机制之一。

【关键词】 环氧化酶-2; 幽门螺旋杆菌; 胃肿瘤; 胃的不典型增生

中图分类号: R735.202

文献标识码: A

CORRELATION BETWEEN CYCLOOXYGENASE-2 PROTEIN IN GASTRIC CARCINOMA AND HELICOBACTER PYLORI INFECTION

YANG Lei¹, GAO Ge², ZHAO Jian-jun³, et al

(1. Department of Endoscopy; 2. Department of Digestive; 3. Department of Respiratory, China-Japan United Hospital of JiLin University; Changchun 130031, China)

【Abstract】 Purpose: To investigate cyclooxygenase-2(COX-2) protein expression in gastric carcinoma and its relationship with the helicobacter pylori(Hp) infection, supply rationale for chemoprevention of gastric carcinoma.

Methods: 35 biopsy specimen from gastric carcinoma, 18 from gastric dysplasia and 15 from patients with chronic gastritis were examined for COX-2 protein expression by immunohistochemistry, and Hp infection condition by urease test, respectively.

Results: Positive rates of COX-2 expression in gastric carcinoma group, gastric dysplasia group and chronic gastritis group were 85.71%, 72.22% and 6.67%, respectively. 35 patients in COX-2 positive cases were Hp positive.

Conclusion: COX-2 protein overexpression may contribute to an early event of gastric cancer development and Hp infection may be one of the mechanisms of COX-2 overexpression.

【Key words】 cyclooxygenase-2; Helicobacter pylori; gastric carcinoma; gastric dysplasia

胃癌是世界范围内发病率及死亡率均较高的恶性疾病, 其确切的发病机制仍不明确, 考虑是几种因素共同作用的结果。近年来的研究表明环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)与消化道肿瘤的发生关系密切。许多研究表明 COX-2 在结肠癌、食管癌中

高表达, 能抑制 COX-2 的非固醇类抗炎药(NSAIDs) 可以作为结肠癌动物模型的有效化学预防剂^[1]。但其在胃癌中的表达及其在胃癌发生发展过程中的作用目前研究相对较少。幽门螺旋杆菌(Helicobacter pylori, Hp)在人群中的感染率非常高, 其与胃癌的关系十分

① 收稿日期: 2002-11-14; 修订日期: 2003-02-27

作者简介: 杨 蕾(1976-), 女, 吉林省吉林市人, 医师, 硕士, 主要研究消化道肿瘤的诊断与治疗。

Tel: (0431)4646484-5534

密切,其感染所导致的慢性胃炎可通过胃粘膜萎缩—肠化生—异型增生这一模式而发展为胃癌。本研究通过检测 COX-2 蛋白在人胃癌及癌前病变组织中的表达及 Hp 感染情况,探讨 COX-2 在胃癌发生过程中的作用及其表达与 Hp 感染的关系,为寻找有效的胃癌预防措施,降低其发生率及死亡率提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究中的标本取自 2001 年 5 月~2002 年 1 月在吉林大学中日联谊医院行胃镜检查及胃癌切除术患者的活检组织。经病理诊断,其中胃癌 35 例,不典型增生 18 例。慢性浅表性胃炎的胃窦组织 15 例作为正常对照,共计 68 例。所有纳入标准的病例均于胃镜检查时行 Hp 尿素酶检查。标本经 10% 中性福尔马林固定,普通石蜡包埋后,切成 4~5 μm 厚的连续切片备用。

1.2 试剂

兔抗 COX-2 蛋白的多克隆抗体由北京中山公司提供,工作浓度为 1:100。尿素酶试纸由中外合资海口南科科技发展有限公司提供(琼药器监(准)字 96 第 260259 号)。

1.3 方法

链霉菌抗生物素蛋白-过氧化酶 SP 法。即:石

蜡切片常规脱蜡水化,每张切片加 1 滴过氧化酶溶液,室温下孵育 10 min, PBS(pH 7.4) 冲洗;滴加 1 滴非免疫性动物血清,室温下孵育 5 min; PBS 漂洗后依次加入一抗 4℃ 过夜;生物素标记的二抗室温下孵育 10 min;链亲和素-过氧化物酶溶液室温下孵育 10 min, PBS 冲洗后 DAB 显色;自来水冲洗中止反应,苏木素复染,脱水、透明、封片。

1.4 结果判定

① COX-2 表达:仅细胞核着蓝色者为阴性, > 10% 的病变细胞的胞质内出现棕黄色颗粒者为阳性。② Hp 感染:将胃镜下所取胃组织置于尿素酶试纸上, 2 min 后观察,试纸变为红色为 Hp 感染阳性。

1.5 统计学方法

采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 COX-2 在胃组织中的表达

35 例胃癌组织中 30 例表达阳性,阳性颗粒位于肿瘤细胞胞质内,见图 1(封三); 18 例不典型增生组织中 13 例表达阳性,见图 2(封三); 15 例慢性浅表性胃炎中,仅 1 例表达阳性,其余均为阴性,见图 3(封三)。COX-2 在胃癌与胃的不典型增生组织中的表达无显著性差别 ($P > 0.05$),而胃癌、不典型增生组织与慢性浅表性胃炎组织中 COX-2 的表达有显著差别 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1. 胃组织(胃癌,胃的不典型增生,慢性浅表性胃炎)中 COX-2 的表达

Table 1. Expression of COX-2 protein in gastric tissues(gastric carcinoma, gastric dysplasia, chronic gastritis)

Histological type	Cases	COX-2(+)	COX-2(-)	Positive rate
Gastric carcinoma	35	30	5	30/35(85.71%)
Gastric dysplasia	18	13	5	13/18(72.22%)
Chronic gastritis	15	1	14	1/15(6.67%)

2.2 Hp 感染情况与 COX-2 表达的关系

共有 39 例胃组织有 Hp 感染,其中 35 例 COX-2

表达阳性。Hp 感染与 COX-2 阳性表达之间有显著相关性 ($P < 0.05$),见表 2。

表 2. Hp 感染情况与 COX-2 表达的关系

Table 2. Correlation between Hp infection and expression of COX-2 protein

Hp infection	Expression of COX-2	
	COX-2(+)	COX-2(-)
Hp(+)	35	4
Hp(-)	8	6

3 讨论

环氧化酶是将花生四烯酸(AA)转变为前列腺素

(PG)的限速酶,共有两种异构酶。COX-1 是结构酶,存在于大多数细胞和组织中^[2]; COX-2 为诱导酶,其表达可被广泛的血管内外激活物诱导,在组织损伤

及炎症时表达增加^[3]。之前有研究表明 COX-2 在结肠癌、结肠腺瘤及食管癌与巴氏食管中表达增加^[4]，而在正常组织中不表达，提示 COX-2 参与消化道肿瘤的转化过程，在结肠癌及食管癌发生的早期起作用。本研究结果证实 COX-2 在胃癌及其癌前病变一胃的不典型增生组织中过度表达，而在慢性浅表性胃炎组织中表达阴性，说明 COX-2 可能参与胃癌的早期形成。

COX-2 促进肿瘤发生发展的作用主要是通过其催化产生的 PGE₂，PGE₂ 是一种免疫调节抑制因子，高浓度的 PGE₂，可抑制抗肿瘤抗体的产生及巨噬细胞、T 杀伤细胞的活性，抑制 TNF- α 、IFN- α 等淋巴因子的产生而有利于肿瘤的生成。PGE₂ 还可刺激成纤维细胞的有丝分裂而诱导肿瘤血管形成，并诱导 Bcl-2、H-ras、K-ras 等促癌基因的表达而抑制凋亡、促进增殖^[5]。除此之外，COX-2 的表达还与肿瘤的转移有关^[6]。

Tsujii 等^[7]证实过度表达 COX-2 的肠道上皮细胞能改变其对细胞外基质的黏附性，抑制丁酸盐介导的凋亡反应，并下调 E-cadherin 和 TGF β_2 ，激活基质金属蛋白酶-2，降解细胞外基质而增加肿瘤的侵袭活性。Murata H^[8]也证实 COX-2 的过度表达增加了胃癌的淋巴转移，不利于预后。

COX-2 在胃癌及癌前病变中过度表达的机制还不明确。体外研究表明，Hp 能上调胃癌细胞 COX-2 mRNA 的表达并刺激 PGE₂ 的释放^[9]。本研究结果显示，在胃癌和胃的不典型增生的组织中，35 例 COX-2 阳性的标本，Hp 尿素酶试验均呈阳性，它们之间有显著相关性，从而提示我们 Hp 感染可诱导 COX-2 的表达而参与胃癌的形成。其可能机制为①COX-2 基因位于其启动区有 NF-KB 结合位点，Hp 可与其结合，激活 COX-2 基因的转录，上调 COX-2 的表达^[10]；②Hp 感染后释放的细胞因子如 IFN- γ 等可刺激 COX-2 的表达^[10]；③Hp 感染后可伴高胃泌素血症，胃粘膜细胞过度增殖，细胞突变和胃粘膜细胞转化为胃泌素生成细胞，高度表达胃泌素受体，从而刺激 COX-2 的过度表达^[11]。尽管 COX-2 的过度表达可以通过其介导的凋亡抑制及促进增殖而有利于 Hp 感染导致的胃炎及胃溃疡的愈合，但是持续的过度表达则可增加其肿瘤转化的危险性。因此 Hp 感染的患者除需考虑根除 Hp 治疗，还可联和应用 COX-2 抑制剂以降低其发展为胃癌的可能性。

总之，我们的研究结果证实，COX-2 在大多数胃癌及癌前病变中过度表达，并且 Hp 感染可能是其过度表达的机制之一。之前有研究表明长期规律服用非固醇类抗炎药可以使结肠癌发生危险性降低 40%，食管癌发生的危险性降低 90%，考虑其机制为抑制 COX-2。本研究再次证实 COX-2 可作为胃癌化学预防的靶目标，NSAIDs 及目前的 COX-2 特异性抑制剂有望作为安全有效的胃癌化学预防剂应用于临床。

参考文献:

- [1] Lim HY, Joo HJ, Choi JH, et al. Increased expression of cyclooxygenase-2 protein in human gastric carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2000, (2): 519-525.
- [2] Vane J. Towards a better aspirin [J]. *Nature*, 1994, 367(6460): 215-216.
- [3] Williams CS, Smalley W, DuBois RN. Aspirin use and potential mechanisms for colorectal cancer prevention [J]. *J Clin Invest*, 1997, 100(6): 1325-1329.
- [4] Wilson KT, Fu S, Raman ujam KS, et al. Increased expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in Barrett's esophagus and associated adenocarcinomas [J]. *Cancer Res*, 1998, 58(14): 2929-2934.
- [5] Sano H, Kawahit Y, Wild RL, et al. Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in human colorectal cancer [J]. *Cancer Res*. 1995, 55(17): 3785-3789.
- [6] 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.
- [7] Tsujii M, Du Bois RN. Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase [J]. *Cell*, 1995, 83(3): 493-501.
- [8] Murata H, Kawano S, Tsuji S, et al. Cyclooxygenase-2 overexpression enhances lymphatic invasion and metastasis in human gastric carcinoma [J]. *Am J Gastroenterol*, 1999, 94(2): 451-455.
- [9] Romano M, Ricci V, Memoli A, et al. Helicobacter pylori up-regulates cyclooxygenase-2 mRNA expression and prostaglandin E2 synthesis in MKN 28 gastric mucosal cells in vitro [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(44): 28560-28563.
- [10] 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(6): 1319-1329.
- [11] Konturek SJ, Konturek PC, Hartwich A, et al. Helicobacter pylori infection and gastrin and cyclooxygenase expression in gastric and colorectal malignancies [J]. *Regul Pept*, 2000, 93(1-3): 13-19.

邝素华, 等: 小鼠外成熟与激素超排卵母细胞核型分析

(正文见第134页)



图 1. 小鼠未成熟卵母细胞
Figure 1. Immature oocyte from mouse



图 2. 小鼠成熟卵母细胞
Figure 2. Matured oocyte from mouse



图 3. 小鼠未成熟卵母细胞核型
(第1次减数分裂终变期-中期核型)
Figure 3. Karyotype of immature oocyte from mouse (diakinesis-metaphase I at meiosis)



图 4. 小鼠成熟卵母细胞正常核型
Figure 4. Normal karyotype of matured oocyte from mouse

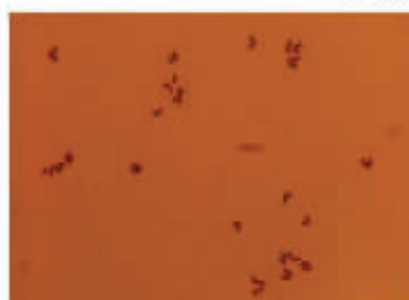


图 5. 小鼠成熟卵母细胞超单倍体
Figure 5. Hyperhaploid of matured oocyte from mouse



图 6. 小鼠成熟卵母细胞亚单倍体
(染色体丢失可能系低渗处理过度所致)
Figure 6. Hypohaploid of matured oocyte from mouse (The chromosome loss may be caused by over hypotonic treatment)

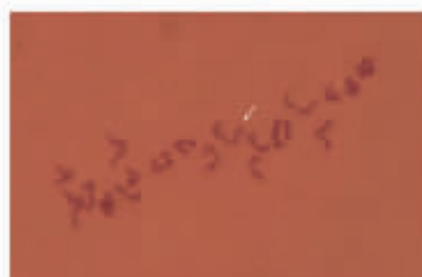


图 7. 小鼠成熟卵母细胞染色体单体断裂 (箭头所示)
Figure 7. Chromatid break of matured oocyte from mouse (arrow)

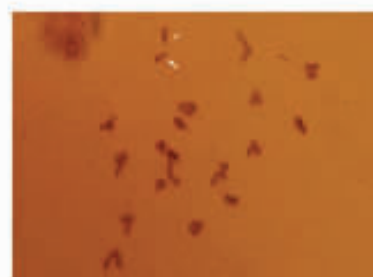


图 8. 小鼠退化卵母细胞中染色单体分离
(箭头所示)
Figure 8. Chromosomal splits in degenerate oocyte from mouse (arrow)

杨 蕾, 等: COX-2在胃癌组织中的表达及与Hp感染的关系探讨

(正文见第148页)

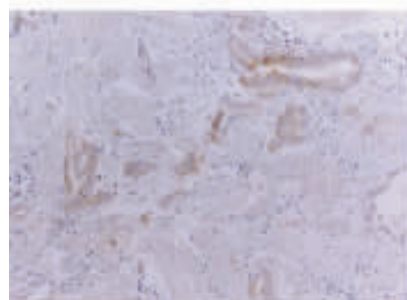


图 1. COX-2在胃癌组织中表达阳性
(SP法 ×200)
Figure 1. Expression of COX-2 protein in gastric carcinoma is positive



图 2. COX-2在胃的不典型增生组织中表达阳性
(SP法 ×200)
Figure 2. Expression of COX-2 protein in gastric dysplasia is positive



图 3. COX-2在慢性萎缩性胃炎组织中表达阴性
(SP法 ×100)
Figure 3. Expression of COX-2 protein in gastritis is negative